Archiv für Hygiene und Bakteriologie

image
not
available

image
not
available

image
not
available


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. M. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN

SIEBENUNDSECHZIGSTER BAND

Mit 2 Tafeln und 3 Abbildungen



MÜNCHEN UND BERLIN

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG

1908


PUBLIC
HEALTH
LIBRARY

Inhalt.

Seite

Über den Desinfektionswert der drei Kresol-Isomeren in Gemischen mit Seife. Von Dr. Hans Schneider 1

Beiträge zur Kenntnis der thermophilen Aktinomyzeten und ihrer Sporenbildung. Von Dr. Harrie Schütze aus Melbourne. (Mit Tafel I und II.) (Aus dem Hygienischen Institut in Würzburg) 35

Neue Untersuchungen über die quantitative Absorption einiger giftiger Gase von Tier und Mensch durch den Respirationstraktus und seine Teile. (Ammoniak, Salzsäure, Schweflige Säure, Essigsäure, Schwefelkohlenstoff.) Nach in Gemeinschaft mit den Herren Dr. Willke aus Hildesheim, Dr. Jiro Yamada aus Japan und Dr. Joseph Wiener aus Bingen ausgeführten Untersuchungen mitgeteilt von Prof. Dr. K. B. Lehmann. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg) 57

Über das Vorkommen von Oxydationsfermenten bei Bakterien und höheren Pflanzen. Von Prof. Dr. K. B. Lehmann und Dr. Sano aus Japan. (Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg) . . . 99

Versuche über die chemische Natur der hämolytischen Immunkörper. Von Dr. Kurt Meyer, I. Assistenten des Instituts. (Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie an der Universität Strafsburg i. Els. Direktor: Prof. Dr. Forster) 114

Über Bakterienkatalase. Von Dr. August Jorns, vorm. Assistenten am Hygienischen Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg. Direktor: Prof. Dr. K. B. Lehmann) . . 134

Malaria und Anopheles in Leipzig. Von Dr. med. Arno Trautmann, Assistenten am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Franz Hofmann) 163

Die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung III. Von Dr. Max Schottelius, Professor der Hygiene. (Aus dem Hygienischen Institute der Universität Freiburg i. Br.) 177

Über das bakteriologische Verhalten des Fischfleisches nach der Zubereitung. Von Dr. Hugo Bruns, Grenztierarzt aus Deutsch-Avricourt. (Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Strafsburg. Direktor: Professor Dr. Forster) . . . 209

Seite

Morphologische und biologische Beeinflussung der Bakterien durch Kalk mit spezieller Berücksichtigung der Kalkdesinfektion. Von Dr. P. Auer. (Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut der Universität Bern. Direktor: Prof. Dr. W. Kolle) 237

Über den Einfluſs der Einatmungen reizender Gase der Industrien auf die Verteidigungskräfte des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten. Experimental-Untersuchungen von Dr. Enrico Ronzani, Assistent. (Hygiene-Institut der Kgl. Universität Padua. Leiter: Prof. A. Serafini) 287

Zur Ätiologie der Impetigo contagiosa. Von Dr. med. Nakao Abe. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kyoto. Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita) 367

Der Nachweis des Tuberkelbazillus im Sputum. Von Dr. med. Nakao Abe. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kyoto. Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita) 372



Über den Desinfektionswert der drei Kresol-Isomeren in Gemischen mit Seife.

Von

Dr. **Hans Schneider.**

Veranlassung zu den vorliegenden Untersuchungen gab der preufsische Ministerialerlafs vom 19. Oktober 1907, durch welchen seitens der Medizinalabteilung des Kultusministeriums für die Hebammen eine Kresolseife vorgeschrieben wurde, die an Stelle des früher verwendeten Trikresols eine nur aus meta- und para-Kresol bestehende Kresolmischung enthält. Das ortho-Kresol war wegen angeblicher Minderwertigkeit ausgeschieden worden.

Da die Voraussetzungen, die zur Einführung der neuen Kresolseife geführt hatten, durch experimentelle Untersuchungen nicht ausreichend gestützt erschienen, hielt ich es bei dem Interesse, das die Kresolseife für die Hebammenpraxis beansprucht, für wichtig, neue Versuche anzustellen, um die Frage nach dem wahren Desinfektionswert der drei Isomeren des Kresols endgültig beantworten.

Zur Entstehung der Kresolseife des Erlasses.

Seit Jahren gingen die Bestrebungen der Medizinalbehörde dahin, dafs für die Hebammenpraxis ein wirksames und gleichmäfsiges Desinfektionsmittel gefunden werde. Man glaubte diese Bestrebungen von Erfolg gekrönt, nachdem der offizinelle Liquor cresoli saponatus ausgearbeitet und in das deutsche Arzneibuch aufgenommen worden war.

Bald aber wurde durch Untersuchungen der hygienischen Institute übereinstimmend die Inkonstanz des neuen Präparates und seine Untauglichkeit für den gedachten Zweck erwiesen.

Es wurden infolgedessen von vielen Seiten wissenschaftliche Arbeiten unternommen, um die Ursache dieser Inkonstanz zu ergründen, ohne dafs jedoch dadurch ein praktisch verwertbares Resultat erreicht worden wäre.

Im Institut für Infektionskrankheiten sind auf Veranlassung von Geheimrat Proskauer derartige Untersuchungen von mir ausgeführt worden, über deren Resultate in meiner Arbeit »Ein Beitrag zur Kenntnis der Phenole in Verbindung mit Säuren und Gemischen mit Seifen vom chemischen und bakteriologischen Standpunkt aus«[1]) berichtet wurde.

Nun war es bekannt, dafs sich im Handel eine Kresolseife befand, von der durch viele Untersuchungen festgestellt worden war, dafs sie zuverlässig wirke, nämlich das »Lysol«. Dieses wurde seitens bekannter chemischer und hygienischer Autoritäten auf seine gleichmäfsige Zusammensetzung und Wirksamkeit hin ständig geprüft und es war durchaus begreiflich, dafs man dieses Präparat in Ermangelung eines besseren oder gleichguten in der Hebammenpraxis obligatorisch machte.

Das Produkt der Lysolfabrik, der, nebenbei bemerkt, das Verdienst gebührt, als erste die Kresolseife in die Desinfektionspraxis eingefürt zu haben, bot aufserdem auf Grund jahrelanger Erfahrungen in der fabrikmäfsigen Herstellung eine bessere Gewähr für Konstanz als die Kresolseife einer Apotheke, bei der es infolge der Inkonstanz der Ausgangsmaterialien und der ungenügenden Vorschrift des Arzneibuches zu deren Prüfung nicht möglich war, Garantie für gleichmäfsige Wirksamkeit zu gewährleisten.

Berechtigte Klagen über ungleichmäfsige Zusammensetzung und Wirksamkeit des Lysols sind während seines Gebrauches in der Hebammenpraxis meines Wissens nicht bekannt geworden, und es wäre dieses zuverlässige Desinfektionsmittel wohl an

1) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 53, S. 116 u. f.

seinem Platz geblieben, wenn nicht ein neuer Liquor Cresoli saponatus seitens der staatlichen pharmazeutischen Institute in Vorschlag gebracht worden wäre, von welchem in dem Erlafs gesagt wird, dafs er dem Lysol desinfektorisch überlegen sei.

Den Anlafs zur Ausarbeitung der neuen Kresolseife hatte der folgende Vorfall gegeben:

»In einer Klage der Lysolfabrik gegen einen gewissen N., der unwahre Behauptungen über die Zusammensetzung des Lysols verbreitet hatte, wurde seitens des Kgl. Kammergerichtes zu Berlin der Direktor des pharmazeutischen Institutes der Universität Berlin, Prof. Dr. Thoms, aufgefordert, ein Gutachten über die Zusammensetzung des Lysols abzugeben. Dieses Gutachten ist in den Arbeiten aus dem Pharmazeutischen Institute der Universität Berlin, Bd. 2, S. 379, veröffentlicht.

Aus der Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse ist folgendes hervorzuheben; ich zitiere wörtlich:

»Die zur Herstellung des Lysols benutzte Seife ist wasserärmer und fettsäurereicher als die Kaliseife des Arzneibuches. Die Lysolseife enthält gegen 68% Fettsäure, während in einer käuflichen Kaliseife des Arzneibuches nur gegen 40% ermittelt wurden. Die zur Herstellung des Lysols benutzte Seife kann gegenüber der Kaliseife des Arzneibuches als ein minderwertiges Produkt nicht bezeichnet werden; sie ist im Gegenteil fettsäurereicher und wasserärmer als die Kaliseife des Arzneibuches.

Das Lysol enthält dem Sollgehalt entsprechend gegen 50% Kresole, in welchen sich Verunreinigungen des schweren Steinkolenteers in bemerkenswerter Menge nicht nachweisen liefsen.«

Im Anschlufs an dieses Gutachten veröffentlichten dann Thoms und Walter[1]) eine Arbeit unter dem Titel »Darstellung von Kresolseifenlösungen, die dem Lysol ähnlich zusammengesetzt sind« Eingangs dieser Veröffentlichung wird wörtlich gesagt:

1) Arbeiten aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Berlin, Bd 2, S. 387 u. f.

»Es hat sich herausgestellt, dafs die unter dem Namen »Lysol« im Handel befindliche Kresolseifenlösung andere Eigenschaften aufweist als eine nach der Vorschrift des D. A. IV bereitete. Erstere z. B. mischt sich in jedem Verhältnis mit Petroläther klar, während dies bei letzterer nicht der Fall ist. Wie durch im hiesigen Institut ausgeführte Analysen (siehe vorstehendes Gutachten) festgestellt wurde, ist der Grund hierfür darin zu suchen, dafs zur Bereitung des Lysols eine wasserärmere und gleichzeitig fettsäurereichere Seife, als das D. A. IV zur Herstellung von Liquor cresoli saponatus vorschreibt, verwendet wird. Es wurden nun verschiedene Versuche gemacht, ein den Eigenschaften des Lysols entsprechendes Präparat herzustellen.«

Das Schlufsergebnis der Arbeit hat nachstehenden Wortlaut:

»Auf Grund der vorstehend mitgeteilten Untersuchungsresultate kann zur Herstellung einer dem Lysol ähnlichen Kresolseifenlösung die nach obiger Vorschrift aus Rüböl bzw. Leinöl bereitete Seife mit etwa 70% Fettsäuregehalt empfohlen werden, welche mit dem gleichen Gewicht 100proz. Kresolgemisch in der Wärme verrührt wird.«

Proben solcher Kresolseifen aus Leinöl- und Rübölseife bereitet, die dem Lysol ähnlich zusammengesetzt waren, wurden daraufhin zur bakteriologischen Prüfung dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten und anderen hygienischen Instituten übersandt.

Im Institut für Infektionskrankheiten wurden diese Kresolseifen von Seligmann und mir auf ihren Desinfektionswert geprüft.

Hierbei ergab sich das interessante, in meiner oben zitierten Arbeit[1]) veröffentlichte Resultat, dafs die Kresolleinölseife der Kresolrübölseife an Desinfektionskraft erheblich überlegen war.

Durch die vorstehenden Feststellungen war bereits ein wertvoller Fingerzeig zur Herstellung einer guten Kresolseife gegeben, und es fragte sich nun weiter, wie das Kresol beschaffen sein müsse, um zu einem möglichst wirksamen Präparat zu gelangen.

1) a. a. O., S. 135.

Zur letzteren Frage äufserten sich Herzog[1]) und Emde[2]) in ihren Vorschlägen zur Aufnahme eines »neuen Cresolum crudum« in das Deutsche Arzneibuch. Die erste, zeitlich etwas frühere Arbeit, stammte aus dem Pharmazeutischen Institut in Berlin, die zweite aus dem Pharmazeutischen Institut in Braunschweig.

Die beiden Autoren beschäftigen sich in ihren Abhandlungen an erster Stelle mit dem Desinfektionswert der drei Kresol-Isomeren und geben unter Berufung auf Untersuchungen verschiedener Forscher der Ansicht Ausdruck, dafs von den drei Isomeren das ortho-Kresol gegenüber den beiden anderen desinfektorisch erheblich minderwertig sei. Infolgedessen fordern sie die Ausscheidung desselben aus dem technischen Trikresol und anstelle dessen die Aufnahme eines meta-para-Kresolgemisches.

Die folgenden Ausführungen haben nun den Zweck festzustellen, ob Herzog und Emde auf Grund der vorhandenen Literatur zur Forderung der Ausscheidung von ortho-Kresol berechtigt gewesen sind, und ob ihnen damit nicht ein wissenschaftlicher Irrtum unterlaufen ist.

Sie benutzten nämlich auffallenderweise zu ihrer Beweisführung der Minderwertigkeit von ortho-Kresol nur einen geringen Teil der vorhandenen Literatur und interpretierten diesen überdies in nicht korrekter Weise.

Eine Nachprüfung der Herzog und Emdeschen Argumente hat deshalb Interesse, weil die Medizinalabteilung des Ministeriums deren Vorschläge angenommen und zur Grundlage der Kresolseife des neuen Hebammenerlasses gemacht hat.

Im folgenden wird in die Besprechung der gesamten vorhandenen Literatur über die Desinfektionswirkung der drei Kresol-Isomeren eingetreten, wobei zuerst die von Herzog zitierten Arbeiten Berücksichtigung finden.

---

1) Apoth.-Ztg., Nr. 8, 1907.
2) Apoth.-Ztg., Nr. 11, 1907.

Gegen die Benutzung der Fraenkelschen Arbeit[1]) zur Entscheidung der Frage der Desinfektionswirkung der drei Kresol-Isomeren, mufs der Einwand erhoben werden, dafs Fraenkel die Kresole in Gemischen mit Schwefelsäure untersucht hat, während es sich im vorliegenden Falle um die Desinfektionswirkung der Kresole in Gemischen mit Seife handelt. Fraenkel hat also unter ganz anderen Verhältnissen geprüft. Während durch die Schwefelsäure die Desinfektionswirkung der Kresole ganz bedeutend erhöht wird, tritt durch Seife nur eine verhältnismäfsig geringe Steigerung der Desinfektionswirkung ein. Man ist nun nicht berechtigt anzunehmen, dafs die gleichen Unterschiede, welche zwischen den einzelnen Kresolen in Gemischen mit Schwefelsäure zutage treten, auch in Gemischen mit Seife vorhanden sein müfsten, ganz abgesehen davon, dafs die Kresole an sich (ohne Schwefelsäure) und auch die Kresolseifen überhaupt keine oder nur geringe Wirkung auf das von Fraenkel ausschliefslich benutzte Testmaterial, sporenhaltiger Milzbrand, zeigen. Wenn die Kresol-Isomeren mit Schwefelsäure Unterschiede in ihrer Desinfektionswirkung aufweisen, so sind diese Unterschiede vermutlich in einer verschiedenen chemischen Affinität der drei Kresol-Isomeren zur Schwefelsäure zu suchen. In meinen Untersuchungen über Kresole und Säuren[2]), in welchen eingehend auf die Fraenkelsche Arbeit eingegangen wurde, ist experimentell nachgewiesen, dafs die Kresole bei Gegenwart freier Schwefelsäure den höchsten Desinfektionswert besitzen, Kresolschwefelsäureester ($O - SO_3H$) schwächer wirken, und die geringste Desinfektionswirkung den kernsubstituierten Sulfosäuren zukommt. Nach meinen Erfahrungen ist nun anzunehmen, dafs ortho-Kresol unter den drei Isomeren am leichtesten zur Esterifizierung und Sulfonierung neigt und infolgedessen die schwächste Desinfektionswirkung zeigt.

Henle[3]) prüfte die Desinfektionswirkung der drei Kresol-Isomeren in wässeriger Lösung, also gleichfalls unter anderen

1) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 6, S. 521.

2) a. a. O.

3) Archiv f. Hygiene, Bd. 9, S. 188 u. ff.

Bedingungen, als sie im vorliegenden Falle gefordert werden müssen. Er fand die drei Isomeren in folgender Reihenfolge wirksam: Meta, Para, Ortho. Seine Arbeit enthält nur ein Versuchsprotokoll über die Wirkung der reinen Kresole (Tab. 10) und es ist nicht zu ersehen, ob Kontrollversuche angestellt worden sind. Das verwendete ortho-Kresol hatte einen Siedepunkt von 185—186° und kennzeichnet sich schon dadurch, als nicht rein, wahrscheinlich phenolhaltig (Siedepunkt von ortho-Kresol nach Beilstein 190,8°)[1]). Über die Beobachtungsdauer des Versuches, ob ein oder mehrere Tage, fehlen Angaben. An Henles Prüfungsmethode ist auszusetzen, dafs er nur einen festen Nährboden verwendet hat, schräg erstarrte Fleischextrakt-Peptongelatine, bei welchem sich der entwicklungshemmende Einflufs von mitübertragenem Desinfiziens in weit höherem Mafse geltend macht, als bei flüssigen Nährböden. Dieser Einwand gilt auch für Tabelle 11, Versuch mit verschiedenen Fraktionen von roher Karbolsäure, bei dem die niedrigst siedende Fraktion bis 193° die schwächste Desinfektionswirkung aufwies.

An dieser Stelle mag gleich auf einen Punkt hingewiesen werden, der mir aufserordentlich wichtig erscheint; das hier Gesagte hat ebenfalls Geltung für die Untersuchungen anderer Forscher, auf die noch später eingegangen wird.

Es ist in keiner Weise auffällig, und durchaus kein Beweis für die Minderwertigkeit von ortho-Kresol, wenn verschiedentlich festgestellt wurde, dafs die niedrigst siedenden Fraktionen der rohen Karbolsäure, welche dem Siedepunkt entsprechend hauptsächlich ortho-Kresol enthielten, die geringste Desinfektionswirkung zeigten. Diese Erscheinung ist auf sehr einfache Weise damit zu erklären, dafs sich zweifellos in den niedrig siedenden Fraktionen der betreffenden Untersucher noch gewisse Mengen Karbolsäure befanden, die natürlich den an und für

1) Beilstein, Handbuch der org. Chemie.

sich ungefähr doppelt so hohen Desinfektionswert des ortho-Kresols herabsetzen. Nur durch wiederholte fraktionierte Destillation gelingt es, die Karbolsäure vollständig zu entfernen. Die höher siedenden, in der Hauptsache meta- und para-Kresol haltenden Fraktionen, sind entweder frei von Karbolsäure oder enthalten nur geringe Mengen derselben; sie sind daher desinfektorisch wirksamer. Ferner kann der Desinfektionswert der höher siedenden Fraktionen durch andere Beimengungen günstig beeinflufst sein.

Nach Eger[1]) verrät sich ein ziemlich hoher Gehalt an Karbolsäure im Kresol durch den Siedepunkt kaum, da dieselbe mit dem Kresol zusammen in gleicher Höhe, weit über dem normalen Siedepunkt der reinen Karbolsäure zu sieden vermag.

Fischer und Koske[2]) untersuchten gleichfalls nur wässerige Lösungen der reinen Kresole und zwar gelangten zwei Handelsmarken der drei Isomeren zur Prüfung. In Versuchsreihe A zeigte para-Kresol den höchsten Desinfektionswert; nach Ansicht der Untersucher ist dies darauf zurückzuführen, dafs para-Kresol A unrein war. Die meta-Verbindung A war der ortho-Verbindung A wenig überlegen. In Versuchsreihe B zeigten ortho-Kresol und para-Kresol keine Unterschiede, meta-Kresol war etwas wirksamer als die beiden anderen.

Zu den Fischer und Koskeschen Untersuchungen ist zu bemerken, dafs dieselben mit Plattenkulturen (Kulturrasen), die mit den Desinfektionslösungen überschichtet wurden, ausgeführt worden sind. Von verschiedenen Stellen des Rasens wurden zu verschiedenen Zeiten Proben in die Nährröhrchen übertragen. Es erscheint zweifelhaft, ob es auf diese Weise gelingt, überall die gleichen Prüfungsbedingungen zu schaffen. Die Plattenkulturen können sowohl hinsichtlich der Dicke der Kulturschicht, als auch in bezug auf die Gesamtmenge des Testmaterials Verschiedenheiten aufweisen, wodurch sich kleinere Unterschiede, wie sie sich in den Versuchen von Fischer und Koske finden, gut erklären lassen dürften. Auf keinen Fall sind die Untersuchungen

1) Pharm.-Ztg., Nr. 101, 1907, S. 1049.
2) Arb. a. d. kaiserl. Ges.-Amt, Bd. 19, S. 577 u. f.

von Fischer und Koske beweisend für die Minderwertigkeit von ortho-Kresol gegenüber para-Kresol.

Die Resultate der Arbeit von Hammerl[1]) berücksichtigt Herzog merkwürdigerweise nicht. Dafs er diese Arbeit kannte, geht daraus hervor, dafs er dieselbe bei anderer Gelegenheit zitiert.

Hammerl untersuchte gleichfalls wässerige Lösungen der drei Kresol-Isomeren. Seine Untersuchungen beziehen sich in der Hauptsache auf die vergleichende Prüfung von ortho- und para-Kresol. Diese waren fest und scheinen demnach rein gewesen zu sein. Das verwendete meta-Kresol erscheint dagegen nicht ganz einwandsfrei, denn es zeigte nur eine geringe Wasserlöslichkeit, 0,53%, wie sie von Gruber[2]) angegeben worden ist, während reines meta-Kresol nach Fischer und Koske[3]) und Reinhardt[4]), bis zu 2% und noch etwas darüber hinaus wasserlöslich ist.

Hammerl verwendete 4 Arten von Testbakterien: Bacillus typhi abdominalus, Bacterium coli commune, Bacillus pyocyaneus und Staphylococcen.

Auf Grund seiner zahlreichen Vergleichsversuche (16) kommt Hammerl zu dem Schlufsergebnis, dafs ortho- und para-Kresol an bakterizider Kraft fast gleichwertig seien. Unterschiede ergaben sich nur in 2 Fällen bei Pyocyaneus, wo einmal para-Kresol (½%), das andere Mal ortho-Kresol (1½%) stärker wirkte. Meta-Kresol wurde in 5 Fällen mitgeprüft und zeigte sich in 4 Fällen den beiden anderen Isomeren überlegen. Hammerl weist auf Grund eigener toxikologischer Versuche darauf hin, dafs bei Gleichwertigkeit an bakterizider Kraft das para-Kresol eine nicht unbeträchtlich höhere Giftwirkung zeigt als das ortho-Kresol.

Auf Hammer[5]) stützt sich besonders Emde.

Hammer untersuchte die Desinfektionswirkung von ortho-, meta-, para-Kresol, ferner die eines Trikresols und eines meta-para-Gemisches. Seine Präparate stammten von der Chemischen Fabrik von Heyden. Die Untersuchungen hatten den Zweck,

1) Hyg. Rundsch., 99, S. 1017.
2) Arch. f. Hyg., 1893, S. 619.
3) a. a. O.
4) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, S. 327.
5) Arch. f. Hyg., IX, S. 359 u. f.

festzustellen, welches von den drei Kresolen bzw. von den Kresolgemischen in Mischung mit meta-kresotinsaurem Natrium am günstigsten wirke. Die Desinfektionslösungen wurden infolgedessen unter Zugabe der genannten Verbindung hergestellt. Die Fabrik von Heyden bringt bekanntlich unter dem Namen Solveol ein Desinfektionspräparat in den Handel, in welchem Kresol durch metakresotinsaures Natrium löslich gemacht ist. Aus den Schlufsresultaten (8. Tag der Beobachtungsdauer) der vergleichenden Versuche ist zu ersehen, dafs bei Staphylokokken Unterschiede in der Desinfektionswirkung zwischen ortho-, meta-, para-Kresol und dem meta-para-Gemisch nicht konstatiert wurden, in allen Fällen keine Abtötung durch die 0,3% haltenden Kresollösungen nach 60 Min. Dagegen war auffallenderweise Trikresol bereits in 30 Min. wirksam. Ich möchte hierzu gleich bemerken, dafs ich in meinen später folgenden Versuchen Ähnliches ermittelt habe.

Gegenüber Prodigiosus zeigte sich von den drei Kresol-Isomeren die para-Verbindung am wirksamsten, an zweiter Stelle stand meta-, an dritter die ortho-Verbindung; das meta-para-Gemisch zeigte gleiche Wirkung mit ortho, während Trikresol mit para als dem besten auf gleicher Stufe stand.

Bei grünem Eiter waren Trikresol und meta-Kresol, als die besten, gleich wirksam, etwas schwächer in ihrer Wirkung, ebenfalls gleich, waren para-Kresol und das meta-para-Gemisch, während ortho-Kresol am schwächsten wirkte.

Die Hammerschen Versuche zeigen das Auffällige, dafs bei Staphylokokken zwischen den drei Kresol-Isomeren Unterschiede in der Desinfektionskraft nicht ermittelt wurden, dagegen solche bei Verwendung von Prodigiosus und grünem Eiter auftraten und zwar unregelmäfsig. Im ersten Fall wirkte die para-Verbindung am stärksten, im zweiten die meta-Verbindung. Kontrollversuche fehlen in der Arbeit, auch ist nichts über die Reinheit der verwendeten Präparate gesagt.

Wichtig ist die durchgehends festgestellte, gleichmäfsige und beste Wirksamkeit für Trikresol und die Feststellung seiner Überlegenheit gegenüber dem meta-para-Gemisch.

Dieser letztere Umstand hätte meiner Meinung nach Emde, der sich in erster Linie auf Hammer beruft, bestimmen müssen, für ein Trikresol und nicht, wie er es getan, für ein meta-para-Gemisch zu plaidieren. Ich kann mir die Stellung von Emde nur damit erklären, dafs er die Hammersche Arbeit nicht mit genügender Sorgfalt studiert hat.

Ich komme nun zu den Untersuchungen von Fehrs[1]). Seine Resultate sind für ortho-Kresol günstig. Nach Tabelle V wirkte dasselbe wesentlich besser wie para-Kresol. Nach Tabelle VI zeigten ortho- und para-Kresol keine Unterschiede, indem mit beiden Präparaten während der geprüften Zeitdauer eine Abtötung nicht erreicht wurde. Meta-Kresol wurde nur bei Versuch VI mitgeprüft und zeigte sich den beiden anderen Isomeren etwas überlegen (geringere Keimzahl), vollständige Abtötung wurde auch damit nicht erreicht.

Die Kresole waren von der Chemischen Fabrik C. A. F. Kahlbaum bezogen.

Die Desinfektionslösungen bei Versuchsreihe V und VI enthielten einen Zusatz von 10% Sapo kalinus auf das darin enthaltene Kresol berechnet. Wie Fehrs dazukommt, gerade 10% Kaliseife zu verwenden, ist nicht recht verständlich, richtiger wäre es doch wohl gewesen, die gleiche Menge Kaliseife wie Kresol zu benutzen, wobei das für Liquor cresoli saponatus geltende Verhältnis zugrunde gelegen hätte.

Die weiteren Untersuchungen von Fehrs beziehen sich auf die vergleichende Prüfung verschiedener Fraktionen der rohen Karbolsäure. Er untersuchte 3 Fraktionen: I. bis 180°, II. von 180—196°, III. von 196—210°. Fraktion III, die nach Ansicht Fehrs hauptsächlich aus meta- und para-Kresol (Sdp. 201,8 und 202,8°!) bestand, erwies sich als die wirksamste. Zwischen Fraktion I und II ermittelte Fehrs merkwürdigerweise keine Unterschiede, was wohl seine Ursache darin hat, dafs er mit zu verdünnten Desinfektionslösungen (0,2%!) arbeitete und deshalb keine Abtötungszeiten erreichte (Prüfungsdauer 2 Stunden). Die höhere

---

1) Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Bd. 37, S. 730.

Wirksamkeit von Fraktion III erklärt sich meiner Ansicht nach ganz einfach dadurch, dafs dieselbe zweifellos entwicklungshemmende, oder den Kresolen an Desinfektionskraft überlegene Stoffe enthielt. Unverständlich ist es warum Fehrs bei Fraktion III um mehr als 7 Grad über den Siedepunkt des meta Kresols hinausgeht. Dadurch verlieren seine Resultate und Schlufsfolgerungen jegliche Bedeutung zur Beurteilung der vorliegenden Frage.

Fehrs folgert ohne weiteres aus seinen Versuchsergebnissen mit den 3 Fraktionen, dafs meta- und para-Kresol dem ortho-Kresol überlegen seien, ohne zu berücksichtigen, dafs seine eigenen Resultate mit den reinen Kresolen damit in direktem Widerspruch stehen (bessere Wirkung von ortho-Kresol gegenüber para-Kresol).

Auf diese Arbeit von Fehrs stützt sich nun zur weiteren Beweisführung, dafs das ortho-Kresol minderwertig sei, Emde, der, wie es scheint, nur die Schlufsfolgerungen von Fehrs gelesen hat.

Auf die exakteste und ausführlichste Arbeit über die Desinfektionswirkung der 3 isomeren Kresole von Seybold[1]), ausgeführt unter Geheimrat Gaffky im hygienischen Institut zu Marburg, gehen sonderbarerweise weder Herzog noch Emde in ihrer Beweisführung für die Minderwertigkeit von ortho-Kresol ein. Herzog kannte diese Arbeit, denn er zitierte sie, allerdings nur ganz flüchtig und bei anderer Gelegenheit, bei Besprechung der Wasserlöslichkeit der Kresole.

An der Versuchsanordnung und Prüfungsmethodik von Seybold ist nichts auszusetzen bis auf die vielfach geübte Kontrolle auf entwicklungshemmende Eigenschaften durch Impfung der steril gebliebenen Röhrchen mit frischer Kultur. Dafs dieselbe keinen besonderen Wert hat, indem sie nichts beweist, haben Seligmann und ich[2]) nachgewiesen.

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionkr., Bd. 29, S. 377 u. f.
2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr., Bd. 58, S. 429.

Seybold untersuchte wässerige Lösungen der folgenden Kresole:

I. ortho-Kresol von der Chemischen Fabrik J. Hauff & Co. Smp. 33°, Sdp. 188°,

II. »Meta-Kresol Hauff« Smp. —4°, Sdp. 188—199°,

III. para-Kresol von der gleichen Firma Smp. 30°, Sdp. 198°. Das Präparat scheint nicht ganz rein gewesen zu sein, denn der Smp. des reinen para-Kresols liegt über dem des ortho Kresols, nämlich bei 36°.

IV. »Trikresol Schering«, aus 40 meta-, 35 ortho- und 25° para-Kresol bestehend. Sdp. fehlt. (Nach Angabe der Fabrik fast ganz frei von Pyridinen.)

Die Versuchsergebnisse mit verschiedenem Testmaterial, Prodigiosus, Pyocyaneus, Staphylokokken, sind folgende: »Meta-Kresol Hauff« zeigte von den verschiedenen Kresolen die beste Wirkung. Die Überlegenheit war jedoch keine sehr bedeutende und machte sich bei 1% und ¾% nicht besonders geltend. Para-Kresol, ortho-Kresol und Trikresol zeigten keine erheblichen Unterschiede untereinander; sie waren annähernd gleich wirksam.

Die Resultate mit den verschiedenen Versuchsbakterien sind nicht ganz regelmäfsig. So zeigte sich z. B. bei Staphylokokken ortho-Kresol ¾ und 1 proz. dem para-Kresol überlegen, während bei Prodigiosus das para-Kresol (½ und ¾%) dem ortho-Kresol überlegen war.

Die Arbeit von Rapp[1]), »Der Desinfektionswert der drei isomeren Kresole«, erschien zeitlich später als die Veröffentlichungen von Herzog und Emde. Rapp stellt zunächst in übersichtlicher tabellarischer Anordnung die Resultate aus der vorhandenen Literatur über die Desinfektionswirkung der drei isomeren Kresole unter Berücksichtigung des gleichen Testmaterials, Staphylokokken, vergleichend zusammen.[2]) Nicht ein-

---

1) Apoth.-Ztg., 1907, Nr. 61.

2) Hier sei bemerkt, dafs in der Tabelle in Bezug auf die Resultate von Hammer ein Fehler enthalten ist. Trikresol war erst in 30 Minuten wirksam und nicht, wie angegeben in 5 Minuten.

begriffen sind meine eigenen Versuche; dieselben waren Rapp vermutlich nicht bekannt. Aus der Tabelle von Rapp, es sind die Untersuchungen von 6 Forschern berücksichtigt, kann eine bakterizide Minderwertigkeit von praktischer Bedeutung für das ortho-Kresol nicht gefolgert werden.

Auf Grund seiner eigenen vergleichenden Desinfektionsversuche, im ganzen 8 Versuchsreihen, unter Verwendung von Staphylokokken, Typhus und Coli, kommt Rapp zu dem Schlufsergebnis, dafs ortho-Kresol dem para-Kresol an bakterizider Wirksamkeit mindestens gleich ist und dem meta-Kresol nur wenig nachsteht. Rapp sagt in bezug auf die Arbeiten von Herzog und Emde wörtlich: »Unter diesen Umständen kann von einer bakteriziden Minderwertigkeit von reinem ortho-Kresol keine Rede sein; es ist deshalb aus diesem Grunde keine Veranlassung vorhanden, ortho-Kresol aus dem künftigen Cresolum crudum des Arzneibuches zu entfernen, umsoweniger, als ortho-Kresol neben der meta-Verbindung das ungiftigere Präparat sein soll.«

Rapp benutzte reine Kresole von Kahlbaum und daneben noch Präparate von Raschig. Seine Versuche sind insofern nicht für die vorliegenden Verhältnisse verwertbar, weil er seine Desinfektionslösungen durch Verdünnung der Kresole mit Glyzerin und nicht mit Seifen herstellte. Glyzerin ist übrigens wenig geeignet zur Herstellung von Desinfektionsmittellösungen, denn wie v. Wunschheim[1]) nachgewiesen hat, und zwar auch für Karbolsäure (Kresole dürften sich nicht anders verhalten), setzt Glyzerin den Desinfektionswert der betreffenden Mittel bedeutend herab.

Meine eigenen[2]) in der Abteilung von Geheimrat Proskauer, im Institut für Infektionskrankheiten angestellten Untersuchungen über die Desinfektionswirkung der drei reinen Kresole und eines meta-

1) Arch. f. Hyg., Bd. 39, S. 101.

2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr., Bd. 53, S. 131.

para Gemisches in Gemischen mit Leinölseife aus dem Jahre 1905 sind Herzog und Emde bei Abfassung ihrer Arbeiten scheinbar nicht bekannt gewesen, was bei Herzog allerdings auffallen mufs, da in der gleichen Arbeit die Resultate meiner Desinfektionsversuche mit der im Pharmazeutischen Institut in Berlin angefertigten Kresolrüböl- und Kresolleinölseife enthalten sind.

Es wurde durch meine damaligen Untersuchungen, welche unter Bedingungen ausgeführt wurden, wie sie für Liquor Cresoli saponatus durch das Deutsche Arzneibuch gegeben sind, die gleiche Wirksamkeit für ortho- und para-Kresol festgestellt; Unterschiede in der Desinfektionswirkung zwischen einem meta-para-Gemisch und Trikresol konnten nicht aufgefunden werden. Meta-Kresol erwies sich ein klein wenig wirksamer wie die andern geprüften Kresole. Die Prüfung wurde mit an Seidenfäden angetrockneten Staphylokokken ausgeführt. Die benutzten reinen Kresole stammten von C. A. F. Kahlbaum.

Sieht man von der von mir aufgestellten Forderung, dafs die Kresol-Isomeren in Mischung mit Leinölseife auf ihre desinfizierenden Eigenschaften geprüft werden müssen, um zu einem einwandfreien Urteil über Wirksamkeit derselben in der praktisch zur Anwendung kommenden Kresolseife zu gelangen, ganz ab, so geht schon aus den von mir besprochenen Untersuchungen, obgleich dieselben gröfstenteils unter abweichenden Bedingungen ausgeführt wurden, deutlich hervor, dafs bei objektiver Würdigung der Resultate, eine praktisch in Frage kommende Minderwertigkeit des ortho-Kresols, wie sie von Herzog und Emde behauptet worden ist, nicht festgestellt werden kann. Von 8 Untersuchern, die Arbeit von Fraenkel ist wegen der angeführten Gründe auszuscheiden, ist zunächst eine zum Teil gröfsere, zum Teil geringere Überlegenheit des meta-Kresols festgestellt worden. Bezüglich der anderen Kresol-Isomeren ist von einem Untersucher (Fehrs) unzweideutig eine Überlegenheit des ortho-Kresols gegenüber para-Kresol, und von 5 Untersuchern,

(Fischer & Koske, Hammerl, Seybold, Rapp, Schneider), Gleichwertigkeit der beiden ermittelt worden, während nur 1 Untersucher (Henle) eine ausgesprochen bessere, und zwei weitere Untersucher, Hammer und Seybold, nur unter gewissen Bedingungen eine etwas bessere Wirkung des para-Kresols konstatierten. Es ist ferner von Hammer die Überlegenheit des Trikresols gegenüber den drei Isomeren und dem meta-para-Gemisch, und von mir Gleichwertigkeit des Trikresols mit dem meta-para-Gemisch festgestellt worden.

Bis auf die Arbeit von Rapp waren die zitierten Arbeiten vorhanden, als Herzog und Emde ihre Vorschläge für ein neues Cresolum crudum machten, zum gröfsten Teil waren sie ihnen auch bekannt, wie sich aus ihren Veröffentlichungen ersehen läfst.

Es mufs daher die Eingangs dieses Abschnittes aufgeworfene Frage, ob es berechtigt gewesen ist, wegen angeblicher Minderwertigkeit, die Ausscheidung des ortho-Kresols aus dem Cresolum curdum zu fordern, entschieden verneint werden.

Eventuell hätte diese Frage von bakteriologischer Seite erneut geprüft werden müssen.

Gründe chemischer Natur für die Einführung des meta-para-Gemisches lagen nicht vor, denn Herzog verwirft selbst die event. für das meta-para-Gemisch als gutes Kriterium dienende Raschigsche Methode der meta-Kresol Bestimmung als nicht geeignet für die Apotheken. Für das Trikresol hätte man aber ebensogut Siedepunktgrenzen festsetzen können, wie für ein meta-para-Gemisch.

Es verbleibt somit als einzig berechtigt erscheinender Grund für die Einführung des neuen Cresolum crudum die von Proskauer (s. dessen Bericht an Thoms[1]) und möglicherweise auch von anderen festgestellte, »etwas stärkere Wirkung«, der Thomsschen Kresolleinölseife II (meta-para-Gemisch) gegenüber der Thomsschen Kresolleinölseife I (Trikresol).

1) Apoth.-Ztg., Nr. 8, 1907.

Diese in einem Falle festgestellte etwas stärkere Wirkung des meta-para-Gemisches war aber nicht geeignet die vorliegende Frage zu entscheiden. Es finden sich nämlich bei technischen Trikresolen und auch bei recht guten, von anscheinend chemisch gleichwertiger Beschaffenheit, wie von mir verschiedentlich festgestellt werden konnte, oft bemerkenswerte Unterschiede hinsichtlich ihrer bakteriziden Wirksamkeit, und es ist fraglich, ob in der Thomsschen Kresolleinölseife I ein Trikresol von besonders guter Beschaffenheit vorlag. Es scheint mir dies umso weniger der Fall gewesen zu sein, als die Trikresolleinölseife Thoms in bakterizider Wirksamkeit nicht unerheblich hinter Lysol, das gleichfalls ein technisches Trikresol und zwar, nach meinen Feststellungen, ein recht gutes enthält, zurückgeblieben war. Wie die Verhältnisse in Wirklichkeit liegen, zeigen meine späteren Untersuchungen mit einem reinen meta-para-Gemisch und einem reinen Trikresol.

Dafs auch das technische meta-para-Gemisch, je nach Herkunft, hinsichtlich seiner bakteriziden Wirkung recht erhebliche Schwankungen aufweist, geht aus den im Anhang befindlichen Untersuchungen über Lysol- und Kresolseife (s. Tabellen VI u. VII) deutlich hervor.

Es folgen nunmehr meine Untersuchungen mit reinen Kresolen, welche unter Verhältnissen ausgeführt wurden, wie sie in der neuen Kresolseife des Erlasses (Seife mit 60% Fettsäure) vorliegen.

Es mag von vielen als gleichgiltig angesehen werden, wie die Kresole auf ihre bakterizide Wirksamkeit geprüft werden, ob bei Gegenwart von Säure, ob in einfach wässeriger Lösung oder in Mischung mit Seife; für gewöhnlich wird man geneigt sein, zu deduzieren, dafs die gleichen Unterschiede, die sich in dem einen Falle zwischen verschiedenen Kresolen zeigen, auch in dem anderen Falle zu Tage treten.

Dafs die Fraenkelschen Prüfungsergebnisse ohne weiteres ungeeignet sind, bei der Beurteilung der Kresolseifen verwendet zu werden, ist bereits bei Besprechung der Fraenkelschen Arbeit klar gelegt worden.

Bei wässerigen Kresollösungen und Kresolseifenlösungen sind dagegen die Prüfungsverhältnisse nicht so sehr verschieden.

Meines Erachtens kommt aber bei den Kresolseifen noch etwas besonderes in Frage. Die Seife zeigt bekanntlich für viele Stoffe lösende oder erweichende Eigenschaften, und es scheint mir bei theoretischer Erwägung durchaus gerechtfertigt anzunehmen, dafs Unterschiede, welche sich bei verschiedenen Kresolen in einfach wässerigen Lösungen zeigen, bei Gegenwart von Seife, durch deren vermittelnde Wirkung, zum Teil oder ganz ausgeglichen werden, denn es läfst sich vermuten, dafs die Kresolseifenlösungen, infolge der erwähnten Eigenschaft der Seife, die Bakterienhülle besser als einfach wässerige Kresollösungen zu durchdringen und eine intensivere Wirkung auszuüben vermögen.

Ich möchte vorweg bemerken, dafs sich bei den folgenden Untersuchungen meine Voraussetzungen bestätigt haben. indem die Kresol-Isomeren, hinsichtlich ihrer bakteriziden Wirksamkeit, bei Gegenwart von Seife tatsächlich ein von den einfachen wässerigen Lösungen abweichendes Verhalten zeigten.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich reine Kreosole von der als zuverlässig bekannten Fabrik C. A. F. Kahlbaum. Bezüglich derselben schrieb mir die Firma unterm 28/12. 1907 folgendes:

»Auf Ihr Geehrtes vom 24. ds. teile ich Ihnen höflichst mit, dafs die Ihnen heute gesandten Kresolpräparate als chemisch rein zu bezeichnen sind, da es mir nicht möglich ist, darin irgendwelche Verunreinigungen nachzuweisen.«

Ortho- und para-Kresol waren fest kristallinisch, meta flüssig. Ich stellte mir nun folgende Kresolleinölseifen mit einem der Vorschrift des Erlasses entsprechenden Gehalt an Fettsäure und einem Gehalt von genau 50% Kresol her.

Kresolleinölseife	I	enthielt	50%	ortho	Kresol
»	II	»	50 »	meta-	»
»	III	»	50 »	para-	»

Kresolleinölseife IV enthielt 50% eines reinen Trikresolgemisches, dasselbe war zusammengesetzt aus 35 T. ortho-, 40 T. meta- und 25 T. para-Kresol, (Kahlbaum).[1])

Kresolleinölseife V enthielt 50% eines reinen meta-para-Kresolgemisches, dasselbe war zusammengesetzt aus 60 T. meta- und 40 T. para-Kresol (Kahlbaum), entsprechend dem Kresol des Erlasses.

Kresolleinölseife VI enthielt 50% technisches Trikresol aus der Lysolfabrik Schülke & Mayr.

Bei Ausführung der Desinfektionsversuche wurde entweder die direkte Methode des Abimpfens aus Desinfektionsmischungen (Bouillonkulturen oder Aufschwemmungen von Agarkulturen, vermischt zu gleichen Teilen mit Desinfektionslösungen von doppelter Konzentration, wie in den Tabellen verzeichnet) benutzt, oder es fand an Seidenfäden angetrocknetes Testmaterial Verwendung, im letzteren Falle unter Spülung mit verdünnten Alkalien. Als Testbakterien dienten Staphylococcus pyogenes aureus und Bacillus typhi. Zur Feststellung der Desinfektionswirkung wurde schwach alkalische Bouillon verwendet, von welcher genau 10 ccm in den Versuchsröhrchen enthalten waren.

Im übrigen wurde nach den Grundsätzen, wie sie von Seligmann und mir in der im Institut für Infektionskrankheiten ausgeführten Arbeit, »Studien zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel«[2]) niedergelegt sind.

Besonderer Wert wurde selbstverständlich darauf gelegt, dafs alle Desinfektionslösungen, welche zum Vergleich kamen, unter genau denselben Bestimmungen geprüft wurden.

Bei Herstellung der Desinfektionslösungen verfuhr ich so, dafs durch genaues Abwägen der Desinfektionsmittel zunächst 10proz. Lösungen in destiliertem Wasser angefertigt und diese zu den einzelnen Versuchen entsprechend weiter verdünnt wurden.

Zum Einstellen der Lösungen und zu den Verdünnungen innerhalb einer Vergleichsreihe wurde stets dieselbe Mensur

1) Entspreshend der durchschnittlich ermittelten Zusammensetzung des technischen Trikresols, Schulze, B. d. d. chem. Ges., Bd. 20, S. 410, und Schultz, Chemie des Steinkohlenteers.

2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr., Bd. 58, S. 413 u. f.

und Pipette benutzt, um Fehler durch Mefsgeräte auszuschliefsen, desgleichen wurde beim Abmessen der Bouillonkultur und Agarkulturaufschwemmungen verfahren.

Bei allen Versuchen nach der direkten Methode übertrug ich aus den Desinfektionsmischungen in die Versuchsbouillonröhrchen den Inhalt einer Öse von 3 mm Durchmesser.

Die näheren Versuchsbedingungen sind bei den einzelnen Tabellen vermerkt·

Betreffs der in den Tabellen verwendeten Zeichen sei bemerkt, dafs

+ Entwicklung, also keine Deinfektionswirkung,

— Abtötung, bzw. Sterilität

bedeutet; Zwischenstufen (verringertes Wachstum) sind in die Tabellen nicht aufgenommen. Solche machten sich nur innerhalb der ersttägigen Beobachtung bemerkbar, bei weiterer Beobachtung entwickelte sich in den betreffenden Röhrchen immer ein volles Wachstum. Ein Nachwachsen nach 48 Stunden war äufserst selten. Die Tabellen enthalten stets die Schlufsresultate der Versuche; die Beobachtung wurde immer so lange ausgedehnt, bis die Versuchsreihen 5—6 Tage hindurch ein konstantes Aussehen zeigten.

I.

Testmaterial: 24stündige Bouillonkultur von Staphylococcus pyogenes aureus (110 ccm Bouillon beimpft mit 2 N-Ösen frischer Agarkultur).

	Einwirkungsdauer in Minuten													
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	70	80
1. o.-Kresolseife $^1/_2$ %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
2. m.- » »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. p.- » »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
4. Tri- » »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
5. m.-p.- » »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
1. o.-Kresolseife $^3/_4$ %	+	+	—	—	—	—								
2. m.- » »	+	+	+	—	—	—								
3. p.- » »	+	+	—	—		—								
4. Tri- » »	+	+	—	—	—	—								
5. m.-p.- » »	+	+	—	—	—	—								

II.

Testmaterial: Staphylococcus pyogenes aureus an Seidenfäden angetrocknet. Fäden I waren bereits 7 Wochen alt (bei Eisschrankaufbewahrung) Fäden II frisch bereitet. Spülung der Fäden mit verdünnter Na OH (1 : 1000) $1\frac{1}{2}$–2 Min.

		Einwirkungsdauer in Minuten							
		Fäden I			Fäden II				
		10	15	20	10	15	20	25	30	40
1. o.-Kresolseife	2 %	+	+	—	+	+	+	+	+	—
2. m.- »	»	+	+	—	+	+	+	+	+	—
3. p.- »	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. Tri- »	»	+	+	—	+	+	+	+	+	—
5. m.-p.- »	»	+	+	+	+	+	+	+	+	—

III.

Testmaterial: Staphylococcus pyogenes aureus. 2 24 stündige Agarkulturen aufgeschwemmt mit wenig steril destill. Wasser filtriert und aufgefüllt auf 70 ccm.

		Einwirkungsdauer in Min.						
		12	24	36	42	48	54	60
1. o.-Kresolseife	$\frac{3}{4}$ %	+	+	+	—	+	—	—
2. m.- »	»	+	+	+	+	—	—	—
3. p.- »	»	+	+	+	+	+	+	—
4. Tri- »	»	+	+	+	+	—	—	—
5. m.-p.- »	»	+	+	+	+	—	—	—
6. Kresolseife a. techn. Trikresol Sch. u. M.	»	+	+	—	—	—	—	—

IV.

Testmaterial: Staphylococcus pyogenes aureus. Agarkulturaufschwemmung wie bei III bereitet.

		Einwirkungsdauer in Min.						
		12	24	30	36	42	48	60
1. o.-Kresolseife	$\frac{3}{4}$ %	+	+	+	—	—	—	—
2. m.- »	»	+	+	+	+	+	—	—
3. p.- »	»	+	+	+	+	—	+	—
4. Tri- »	»	+	+	+	—	—	—	—
5. m.-p. »	»	+	+	+	—	—	—	—
6. Kresolseife a. techn. Trikresol Sch. u. M.	»	+	—	—	—	—	—	—

V.

Testmaterial: Staphylococcus pyogenes aureus. Agarkulturaufschwemmung wie bei III bereitet.

		Einwirkungsdauer in Min.					
		1	2	4	6	8	10
1. o.-Kresolseife	1 %	+	+	+	+	—	—
2. m.- »	»	+	+	+	+	—	—
3. p.- »	»	+	+	+	+	+	—
4. Tri- »	»	+	+	+	+	—	—
5. m.-p.- »	»	+	+	+	+	—	
6. Kresolseife a. techn. Trikresol Sch. & M.	»	+	+	+	—	—	—

VI.

Testmaterial: Bacillus typhi abdominalus, 24stündige Bouillonkultur (100 ccm Bouillon beimpft mit 2 N-Ösen Typhusagarkultur).

		Einwirkungsdauer in Min.										
		12	24	30	36	42	48	54	60	70	80	90
1. o.-Kresolseife	1/2 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
2. m.- »	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. p.- »	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
4. Tri- »	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
5. m.-p. »	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
6. Kresolseife a. techn. Trikresol Sch. & M.	»	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

VII.

Testmaterial: Bacillus typhi abdominalus, 24stündige Bouillonkultur (70 ccm Bouillon beimpft mit 1 N-Öse Agarkultur).

		Einwirkungsdauer in Min.							
		12	18	24	30	36	42	48	60
1. o.-Kresolseife	3/4 %	+	—	—	—	—	—	—	—
2. m.- »	»	+	+	—	—	—	—	—	—
3. p.- »	»	+	—	—	—	—	—	—	—
4. Tri- »	»	+	—	—	—	—	—	—	—
5. m.-p.- »	»	+	—	—	—	—	—	—	—
6. Kresolseife a. techn. Trikresol Sch. & M.	»	+	—	—	—	—	—	—	—

Versuchsergebnisse mit reinen Kresolen in Mischung mit Leinölseife.

Bei Bouillonkulturen (Staphylokokken und Typhus) zeigte meta-Kresol in 4 Versuchen auffallenderweise die schwächste Wirkung unter den drei Isomeren, in drei Fällen erwiesen sich die ortho- und para-Verbindung gleich, in einem Falle para unterlegen.

Bei Staphylokokken-Agarkulturaufschwemmungen (sowohl Aufschwemmungen wie Desinfektionslösungen mit dest. Wasser hergestellt) zeigte durchweg die para-Verbindung die schwächste Desinfektionswirkung. Zwischen ortho- und meta-Kresol ergab sich einmal zugunsten der ortho-Verbindung, ein anderes Mal zugunsten der meta-Verbindung eine bessere Wirkung, in einem dritten Falle wirkten beide gleich.

Bei angtrocknetem Testmaterial (Staphylokokken an Seidenfäden) zeigte gleichfalls die para-Verbindung schwächere Wirkung wie die beiden anderen Isomeren, bei denen sich untereinander keine Unterschiede bemerkbar machten.

Von den aus reinen Kresol-Isomeren zusammengesetzten Kresolgemischen erwies sich in 7 Fällen das meta-para-Gemisch dem Trikresolgemisch gleichwertig, in 2 Fällen war letzteres dem meta-para-Gemisch etwas überlegen. Die beiden Kresolgemische zeigten in keinem Falle eine geringere Wirkung wie die einzelnen Kresol-Isomeren. Bei der Trikresolmischung wurde gegenüber meta-Kresol in 5 Fällen, gegenüber para-Kresol in 7 Fällen, und gegenüber ortho-Kresol in nur 2 Fällen eine Überlegenheit festgestellt. Das meta-para-Gemisch war in 5 Fällen sowohl dem meta-Kresol wie dem para-Kresol überlegen, dem ortho-Kresol dagegen nur in 2 Fällen.

Wie des Näheren aus den Versuchsprotokollen hervorgeht, sind die Unterschiede in der Desinfektionswirkung der einzelnen Kresole bei Gegenwart von Leinölseife keine solchen, dafs sie von erheblicher praktischer Bedeutung wären; die geringen Unterschiede werden aber ausgeglichen in den Kresolgemischen,

bei denen unzweideutig eine, vor allen Dingen gleichmäfsigere und zum Teil auch bessere Desinfektionswirkung, wie mit den Einzelkresolen nachgewiesen wurde. Das günstigste Mischungsverhältnis liegt nach meinen Uutersuchungen im Trikresol vor.

Dafs von einer Minderwertigkeit von ortho-Kresol keine Rede sein kann, geht aus meinen Untersuchungen klar hervor, eher könnte eine solche von para-Kresol oder auch von meta-Kresol behauptet werden.

Es sei an dieser Stelle darauf aufmerksam gemacht, dafs sich zwischen meinen jetzigen Resultaten und meinen früheren, in bezug auf das meta-Kresol (in Frage kommen nur Versuche mit an Seidenfäden angetrockneten Staphylokokken) kleine Unterschiede zeigen, die ich nur dadurch zu erklären vermag, dafs jetzt in Mischung mit einer Leinölseife geprüft wurde, die einen um 20% höheren Fettsäuregehalt hatte, wie die zu meinen früheren Versuchen benutzte Leinölseife des deutschen Arzneibuches.

Technisches Trikresol.

Bei einer Anzahl der angestellten Versuche wurde unter den gleichen Bedingungen das technische Trikresol mitgeprüft, das die Lysolfabrik zur Herstellung von Lysol verwendet. Es zeigte sich hierbei die interessante Erscheinung, dafs dasselbe in allen Fällen den reinen Kresolen, und auch den aus reinen Kresolen zusammengesetzten Kresolgemischen nicht unerheblich überlegen war.

Frappant trat diese Überlegenheit in ½proz. Lösung (gegenüber Typhusbazillen) zutage; in höheren Konzentrationen war sie geringer.

Aus dieser Feststellung geht das für die Praxis aufserordentlich Wichtige hervor, dafs einem sorgfältig ausgewählten technischen Trikresol der Vorzug vor den reinen Kresolen zu geben ist; des weiteren

ist diese Feststellung aber auch geeignet die durchgehends festgestellte bessere Wirkung von Lysol im Vergleich zur Kresolseife des Erlasses[1]) zu erklären.

Ferner ist der Schlufs berechtigt, dafs gewisse Beimengungen anderer aus dem Teer stammender Stoffe, wie solche zweifellos auch noch in dem Trikresol des Lysols enthalten sein müssen, die Desinfektionskraft der Kresole günstig beeinflussen, denn nur dadurch läfst sich die höhere Wirksamkeit des technischen Trikresols gegenüber einem reinen Trikresol erklären. Diese Beimengungen oder Verunreinigungen können im vorliegenden Falle nur ein Minimum betragen, denn sie lassen sich chemisch schwer nachweisen, wie aus den Angaben von Thoms (s. dessen Gutachten über Lysol), und auch daraus hervorgeht, dafs das Kresol des Lysols der Prüfungsvorschrift des Arzneibuches für Cresolum crudum durchaus genügt.

Dafs die Lysolfabrik, die seit annähernd 20 Jahren das Kresolseifenpräparat Lysol herstellt, über ein ausgesucht gutes Rohmaterial verfügt, ist nicht weiter auffällig, denn sie hat in dieser langen Zeit zweifellos hinreichend Erfahrungen sammeln können. Ein Irrtum ist es aber, wenn von vielen angenommen wird, jeder Apother sei ohne weiteres imstande, sich ein gleichgutes Rohmaterial zu beschaffen und ein dem Lysol ebenbürtiges Produkt zu bereiten.

Dafs zudem in einem zuverlässigen Grofsbetriebe immer ein gleichmäfsigeres Produkt hergestellt werden wird, wie in kleinerem Mafsstabe in einem Laboratorien, gilt nicht nur für Kresolseife, sondern auch für viele andere chemische Produkte.

Um auch die Apotheker in den Stand zu setzen, eine gleichmäfsig wirkende Kresolseife herzustellen, bedarf es unbedingt noch einer erheblich verbesserten Prüfungsvorschrift für das Cresolum crudum. Die Festsetzung von Siedepunktsgrenzen bei dem jetzt zur Verwendung kommenden meta-para-Gemisch sind nach den Ausführungen von Eger[2]) und Raschig[3]) allein nicht

1) Zeitschr. f. Mediz.-Beamte 1908, Heft 2, und Anhang zu dieser Arbeit
2) Pharm.-Ztg. 1907, Nr. 101, S. 1049.
3) Pharm.-Ztg. 1908, Nr. 10, S. 99.

genügend, denn sie gewährleisten noch keine gleichmäfsige Zusammensetzung. Die Raschigsche Methode ist aber nach Herzog, wie ich schon erwähnte, für den Apothekenbetrieb ungeeignet.

Nach Raschig (s. Schlufs der Arbeit) kann übrigens leicht der Fall eintreten, dafs das Kresolgemisch vom Sdp. 199—204° nicht aus einem metareichen, sondern aus einem parareichen Produkt besteht, denn wie Raschig ausführt (er selbst ist Kresolproduzent und daher wohl sachverständig) wird bei starker Nachfrage nach meta-Kresol, dieses nach Möglichkeit von dem para-Kresol getrennt. In diesem Fall würde für die Hebammenpraxis also ein ungleich höhergiftiges Produkt verbleiben, wie es das Trikresol ist.

Dieser Hinweis von Raschig ist aufserordentlich wertvoll und sollte allein schon dazu veranlassen, das neue Cresolum crudum wieder zu beseitigen.

Aber auch aus anderen Gründen ist für Beibehaltung des bisher benutzten Trikresols zu plaidieren.

Aus meinen Untersuchungen mit reinen Kresolgemischen hat sich gezeigt, dafs ein Trikresolgemisch von ungefähr der gleichen Zusammensetzung wie das technische nicht schwächer, sondern im Gegenteil eher etwas besser wirkt als das meta-paragemisch.

Kleinere Schwankungen, wie sie das technische Trikresol in bezug auf seinen Gehalt an den einzelnen Isomeren aufweist, können nach meinen Untersuchungen nicht von erheblicher Bedeutung sein.

Bei der Ausarbeitung einer neuen genauen Prüfungsvorschrift für technisches Trikresol müfsten folgende Punkte berücksichtigt werden:

I. Festsetzung von Siedepunktsgrenzen, die ungefähr zwischen 189—204° liegen müfsten (Sdp. von ortho-Kresol 190,8, von meta-Kresol 202,8°)

II. Möglichst vollständige Abwesenheit der desinfektorisch erheblich minderwertigen Karbolsäure,

III. Beschränkung der sonstigen Verunreinigungen auf einen gewissen Mindestgehalt.

Zu II und III würde es nötig sein eingehende Untersuchungen anzustellen, um zuverlässige Reaktionen aufzufinden. Die einfache chemische Prüfung des Arzneibuches für Cresolum crudum genügt nicht. Ich selbst bin zur Zeit mit der Ausarbeitung einer raschen und einfach auszuführenden Methode zur Kresolbestimmung, die möglicherweise auch Anhaltspunkte für den Nachweis von Karbolsäure liefert, beschäftigt.

Zum Schlufs sei hier noch darauf hingewiesen, dafs auch die Vorschrift des Erlasses, mit Bezug auf die Bereitung der Leinölseife, keine absolute Gewähr für deren gleichmäfsigen Ausfall bietet, denn es ist bekannt, dafs sich frisches oder junges Leinöl bei der Verseifung ganz anders verhält, wie altes abgelagertes Leinöl. Ersteres verseift sich nach der gegebenen Vorschrift sehr schlecht und langsam, und es ist bei Verarbeitung kleinerer Mengen, wie sie zumeist im Apothekenbetrieb vorkommen dürfte, oft sehr schwer, ja fast unmöglich eine vollständige Verseifung zu erzielen.

Zu beanstanden ist ferner an der Vorschrift des Erlasses, dafs bei der fertigen Kresolseife nicht das Einstellen auf ein bestimmtes Gewicht gefordert worden ist, wie es für ein Produkt geboten erscheint, das immer gleichmäfsig zusammengesetzt sein soll.

Anhang.

Im folgenden teile ich eine Reihe praktisch wichtiger Desinfektionsversuche mit, die einen Vergleich zwischen der Kresolseife des Erlasses vom 19. Oktober 1907 und Lysol bezwecken. Sie bilden die Fortsetzung der früher von mir veröffentlichten Versuche[1]) und bestätigen die dort gefundenen Resultate in allen Punkten.

1) Zeitschr. f. Med.-Beamte, 1908, Nr. 2.

Bezüglich der Ausführung der folgenden Desinfektionsverversuche gilt das Gleiche, was im ersten Teil als Einleitung zu den dort verzeichneten Versuchen (S. 19) gesagt worden ist.

Es gelangten zuerst folgende Präparate zum Vergleich:

1. Lysol, Originalpackung.
2. Kresolseife nach Erlafs, selbst hergestellt genau nach Vorschrift unter Verwendung eines meta-para-Kresols von der chemischen Fabrik Dr. F. Raschig, Ludwigshafen, der Siedepunkt desselben lag bei 199 bis 201°, also innerhalb der geforderten Grenzen.
3. Kresol nach Erlafs, hergestellt von der Lysol-Fabrik Schülke & Mayr (gleichfalls mit Kresol Raschig).

Versuchsreihe I.

Testmaterial: 24stündige Bouillonkultur von Staphylococcus pyogenes aureus (100 ccm Bouillon beimpft mit 2 Normalösen frischer Agarkultur).

Desinfektionsmittel		Dauer der Einwirkung in Minuten:										
		3	6	9	12	15	20	25	30	35	40	45
I. Lysol	½ %	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III. » Schülke & Mayr	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I. Lysol	¾ %	+	—	—	—	—	—	—	—			
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	+	—	—	—	—			
III. » Schülke & Mayr	»	+	+	+	+	—	—	—	—			
I. Lysol	1 %	—	—	—	—	—						
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	—	—	—	—						
III. » Schülke & Mayr	»	+	—	—	—	—						

Versuchsreihe II.

Testmaterial: Agarkultur-Aufschwemmung von Staphylococcus pyogenes aureus (3 Agarkulturröhrchen auf 100 physiol. Kochsalzlösung).

Desinfektionsmittel		Dauer der Einwirkung in Minuten: 3	6	9	12	15	20	25	30	35	40	45
I. Lysol	½ %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III. » Schülke & Mayr	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I. Lysol	¾ %	+	+	—	—	—	—	—	—			
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	+	+	+	—	—			
III. » Schülke & Mayr	»	+	+	+	+	+	+	—	—			
I. Lysol	1 %	—	—	—	—	—						
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	—	—	—	—						
III. » Schülke & Mayr	»	+	—	—	—	—						

Versuchsreihe III.

Testmaterial: 48stündige Bouillonkultur von Staphylococcus pyogenes aureus (50 ccm Bouillon beimpft mit einer Normalöse frischer Agarkultur) verdünnt mit dem gleichen Volumen sterilen Leitungswassers.

Desinfektionsmittel		Dauer der Einwirkung in Minuten: 3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	35	40	45	50	55	60
I. Lysol	½ %	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III. Kresolseife, Schülke & Mayr	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
I. Lysol	¾ %	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—						
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—						
III. Kresolseife, Schülke & Mayr	»	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—						

Desinfektionsmittel		Einwirkungsdauer in Min 1	2	3	4	6	8	10
I. Lysol	1 %	+	—	—	—	—	—	—
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	—	—	—	—
III. » Schülke & Mayr	»	+	+	[illegible]	+	—	—	—

Versuchsreihe IV.

Testmaterial: Staphylococcus pyogenes aureus an Seidenfäden angetrocknet, 21 Tage alt (bei Eisschrank-Aufbewahrung). Spülung der Fäden nach Einwirkung des Desinfektionsmittels mit verd. NaOH (1 : 1000) 1½—2 Minuten.

Desinfektionsmittel		Einwirkungsdauer in Min.: 5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
I. Lysol	1 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II. Kresolseife, selbst bereitet . .	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III. Kresolseife, Schülke & Mayr .	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I. Lysol	1,5 %	+	+	+	+	+	+	+	—	—			
II. Kresolseife, selbst bereitet . .	»	+	+	+	+	+	+	+	+	—			
III. » Schülke & Mayr .	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
I. Lysol	2 %	+	+	+	+	—	—						
II. Kresolseife, selbst bereitet . .	»	+	+	+	+	+	—						
III. » Schülke & Mayr .	»	+	+	+	+	+	—						

Versuchsreihe V.

Testmaterial: Bacillus typhi abdominalus, 24 std. Bouillonkultur (50 ccm beimpft mit einer Normalöse frischer Agarkultur) verdünnt mit dem halben Volumen sterilen Leitungswassers.

Desinfektionsmittel		Einwirkungsdauer in Minuten: 3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	35	40	45	50
I. Lysol	½ %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III. » Schülke & Mayr	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I. Lysol	¾ %	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
II. Kresolseife, selbst bereitet	»	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—				
III. » Schülke & Mayr	»	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—				

Zu den weiteren Versuchen wurden verwendet:

I. Lysol, Originalpackung.

Kresolseife nach Erlafs:

II. Von der Firma Schneider & Gottfried, Kassel.

III. » » Bollmann & Grau, Berlin.

IV. » » chem. Fabrik Ladenburg, G. m. b. H., Ladenburg/Mannheim.

V. Von Scherings »grüner Apotheke«, Berlin (nach Rezept gefordert).

VI. » Lucaes Apotheke, Berlin, Unter den Linden (nach Rezept frisch bereitet).

Versuchsreihe VI.

Testmaterial: 24stündige Bouillonkultur von Staphylococcus pyogenes aureus (100 ccm Bouillon beimpft mit 2 Normalösen frischer Agarkultur), verdünnt mit dem gleichen Volumen sterilen Leitungswassers.

Desinfektionsmittel		Einwirkungsdauer in Minuten:											
		6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
I. Lysol	$^1/_2$ %	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–
II. Kresolseife n. Erlaſs, Schneider & Gottfried	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III. Kresolseife n. Erlaſs, Bollmann & Grau	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV. Kresolseife n. Erlaſs, Ladenburg	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. » » » Schering	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VI. » » » Lucae	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Desinfektionsmittel		Einwirkung in Min.:							
		3	6	9	12	15	20	25	30
I. Lysol	$^3/_4$ %	+	+	–	–	–	–	–	–
II. Kresolseife n. Erlaſs, Schneider & Gottfried	»	+	+	+	+	+	–	–	–
III. » » » Bollmann & Grau	»	+	+	+	–	–	–	–	–
IV. » » » Ladenburg	»	+	+	–	–	–	–	–	–
V. » » » Schering	»	+	+	+	+	+	–	–	–
VI. » » » Lucae	»	+	+	+	+	+	–	–	–

Desinfektionsmittel		Einwirkung in Min.				
		2	4	6	8	10
I. Lysol	1 %	–	–	–	–	–
II. Kresolseife n. Erlaſs, Schneider & Gottfried	»	+	–	–	–	–
III. » » » Bollmann & Grau	»	+	–	–	–	–
IV. » » » Ladenburg	»	+	–	–	–	–
V. » » » Schering	»	+	–	–	–	–
VI. » » » Lucae	»	+	+	–	–	–

Versuchsreihe VII.

Testmaterial: 24 stündige Bouillonkultur von Staphylococcus pyogenes aureus (100 ccm Bouillon beimpft mit 2 Normalösen frischer Agarkultur) verdünnt mit dem halben Volumen sterilen Leitungswassers.

Desinfektionsmittel		Einwirkungsdauer in Minuten												
		6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72	80
I. Lysol	$^1/_2$ %	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
II. Kresolseife n. Erlafs, Schneider & Gottfried	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III. Kresolseife n. Erlafs, Bollmann & Grau	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV. Kresolseife n. Erlafs, Ladenburg	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. Kresolseife n. Erlafs, Schering	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VI. Kresolseife n. Erlafs, Lucae	»	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I. Lysol	$^3/_4$ %	+	—	—	—	—								
II. Kresolseife n. Erlafs, Schneider & Gottfried	»	+	+	+	—	—								
III. Kresolseife n. Erlafs, Bollmann & Grau	»	+	+	—	—	—								
IV. Kresolseife n. Erlafs, Ladenburg	»	+	—	—	—	—								
V. Kresolseife n. Erlafs, Schering	»	+	+	+	—	—								
VI. Kresolseife n. Erlafs, Lucae		+	+	+	+	—								

Aus den vorstehend mitgeteilten Versuchsprotokollen geht hervor, dafs sich Lysol, sowohl gegenüber der nach Erlafs selbst bereiteten Kresolseife, als auch im Vergleich zu verschiedenen Handels-Kresolseifen, welche alle als den Erlafs entsprechend geliefert waren, in allen Fällen überlegen zeigte.

Um das Lysol selbst auf seine Konstanz zu prüfen, wurden von auswärts 2 Originalproben Lysol bezogen und diese mit dem zu meinen Versuchen benutzten Präparate verglichen. Die eine Probe stammte aus einer Apotheke in Mainz, die andere aus einer Drogerie im Norden Berlins. Die Resultate dieser Versuche, die die Gleichmäfsigkeit des Handelslysols bestätigen, sind in den folgenden Protokollen enthalten.

Versuchsreihe VIII.

Lysolkontrolle.

Testmaterial: 48stündige Bouillonkultur von Staphylococcus pyogenes aureus (50 ccm Bouillon beimpft mit 2 Normalösen frischer Agarkultur) verdünnt mit dem halben Volum sterilen Leitungswassers.

Desinfektionsdauer in Min.:	5	10	15	20	25	30
I. Orig.-Lysol zu meinen Versuchen benutzt $^3/_4$ %	+	—	—	—	—	—
II. » in Berlin gekauft »	+	—	—	—	—	—
III. » in Mainz gekauft »	+	—	—	—	—	—

Testmaterial: Agarkultur-Aufschwemmung von Staphylococcus pyogenes aureus (1 Agarkultur auf 35 ccm physiol. Kochsalzlösung).

Desinfektionsdauer in Min.:	5	10	15	20	25	30
I. Orig.-Lysol zu meinen Versuchen benutzt $^3/_4$ %	+	+	—	—	—	—
II. » in Berlin gekauft »	+	+	—	—	—	—
III. » in Mainz gekauft »	+	+	—	—	—	—

Zusammenfassung der Resultate der vorliegenden Arbeit.

1. Die von Herzog und Emde vertretene Anschauung der Minderwertigkeit von ortho-Kresol gegenüber para-Kresol, läfst sich bei eingehender objektiver Prüfung der vorhandenen Literatur nicht aufrecht erhalten.

2. Untersuchungen über den Desinfektionswert der drei isomeren reinen Kresole, und von Kresolgemischen aus reinen Kresolen, bei Gegenwart einer fettsäurereichen Leinölseife, haben gezeigt, dafs Unterschiede von praktischer Bedeutung zwischen den einzelnen Kresolen hinsichtlich ihrer bakteriziden Wirksamkeit nicht bestehen, und dafs Gemische der Kresolisomeren gleichmäfsiger und etwas besser als die einzelnen Kresole wirken.

3. Technisches Trikresol von gleicher Qualität, wie es im Lysol enthalten ist, wies stärker desinfizierende Eigenschaften auf, als ein ähnlich zusammengesetztes reines Trikresolgemisch.

4. Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen erscheinen die Voraussetzungen, die zur Einführung der neuen Kresolseife des Erlasses vom 19. Oktober 1907 Veranlassung gegeben haben, hinfällig.
5. Durch ausführliche Untersuchungen (s. Anhang) wurde erneut festgestellt, dafs Lysol der neuen Kresolseife des Erlasses vom 19. Oktober überlegen ist, im Gegensatz zu den Angaben des betreffenden Erlasses.

Beiträge zur Kenntnis der thermophilen Aktinomyzeten und ihrer Sporenbildung.

Von

Dr. Harrie Schütze

aus Melbourne.

Mit Tafel I und II.

(Aus dem Hygienischen Institut in Würzburg.)

I. Einleitung.

Veranlassung zur Arbeit.

Zu den Untersuchungen, welche ich auf den folgenden Blättern mitteile, bin ich im Verlauf einer gröfseren Arbeit gekommen, die ich mit Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann im verflossenen Winter durchgeführt habe. Wir beschäftigten uns mit der wichtigen Frage nach den Ursachen der Selbsterhitzung gärenden Heues, worüber im November 1906 eine befriedigende Aufklärung noch ausstand. Die kurze Arbeit von Dr. Miehe in Leipzig in der Arbeit d. Deutschen Landwirtschaftsgesellsch., Heft III, S. 1905, hatte eine Reihe wichtiger bestimmter Angaben über Organismen, die bei der Selbsterhitzung beteiligt sind, gemacht. Aber schon unsere ersten Versuche hatten gezeigt, dafs mindestens in einzelnen Punkten Miehes Befunde mit den unseren nicht zu vereinigen seien. So hatte Miehe vielfach ein Oidium gefunden, während uns vom ersten Versuch an Aktinomyzesrasen imponierten, die bald als weifse bald als graugrüne mehlige Massen den Inhalt ausgegorener Versuchsbüchsen überzogen. Während wir mit der Reinkultur der beiden in Miehes erster Arbeit übersehene Aktinomyzesarten beschäftigt waren, erschien Miehes treffliche Arbeit »Die Selbsterhitzung des Heues«, Jena, Fischer 1907, durch welche die ganze Frage der Heugärung in erheblichem Mafse nach verschiedenen Richtungen hin gefördert wurde. Auch beschreibt Miehe nun als Actinomyces und Thermomyces zwei höher organisierte Organismen,

von denen er selbst angibt, dafs er ihre Sporen in der ersten Arbeit mit Bazillensporen verwechselt habe.

Trotz dieser Mieheschen Arbeit schien es nicht uninteressant, das Studium der thermophilen Aktinomyzesarten sorgfältig fortzusetzen, zumal da einige Literaturstudien ergeben hatten, dafs die Angaben der Literatur über diese biologisch interessanten Organismen untereinander recht wenig übereinstimmten.

Herr Prof. Lehmann betraute mich mit der selbständigen Bearbeitung dieses Themas, während wir gemeinsam die biologisch wichtige Untersuchung über Heugärung fortsetzten.

Ich hoffe, dafs es mir gelungen ist, eine Reihe nicht uninteressanter Beiträge zu liefern, die ich später noch zu vermehren hoffe. Es zeigt sich auch auf diesem Gebiet der Bakteriologie, dafs, sowie man von verschiedenen Autoren beschriebene Organismen einer kritischen Vergleichung unterzieht, Differenzen und Zweifel sich ergeben, von denen derjenige nichts ahnt, der eine einzelne Arbeit der Literatur allein durchsieht.

II. Unsere bisherigen Kenntnisse von den thermophilen Aktinomyzeten.

Ich gebe zunächst aus der Literatur eine möglichst vollständige Aufzählung der bekannten thermophilen Aktinomyzesarten, wobei ich die einzelnen Arten an dieser Stelle nur kurz charakterisiere und für ihre einzelnen Merkmale auf die Übersichtstabelle (S. 48/49) verweise. Es zeigte sich, dafs nur in Form einer Übersichtstabelle die Übereinstimmung und die Differenzen zwischen den einzelnen Arten deutlich hervortreten.

Im Jahre 1888 beschrieb zuerst Globig (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 3) einen Pilz aus dem Boden, welcher bei Temperaturen über 50° wuchs, und den wir unbedenklich zu den Aktinomyzeten rechnen dürfen. Der Organismus wuchs auf Kartoffelscheiben als intensiv weifs gefärbte Flecken, er bestand aus verästelten Fäden. Auch beschreibt er runde Körper von der dreifachen Gröfse von Eiterkokken (offenbar Aktinomyzessporen), die sich

nur nach 10 Minuten langer Erhitzung in Zielscher Lösung färbten.

Im Jahre 1896 beschrieb Kedzior aus dem Hygienischen Institut in Berlin unter dem Namen Cladothrix einen echten thermophilen Actinomyces aus Kloakenwasser. Der Pilz wuchs zwischen 35 und 65°. Das verzweigte Myzelium bildete eine zarte Scheibe, Luftmyzel mit Sporen wird beschrieben. Die Sporen färben sich schlecht mit den gewöhnlichen Bakterienfärbungsmethoden und sind ganz aufserordentlich hitzebeständig, indem sie 3—4 Stunden lang den strömenden Dampf vertragen. Den Fäden soll Eigenbewegung zukommen und den abgeschnürten Sporen eine Schwärmebewegung. Auch kürzere Fadenstücke werden gelegentlich abgeschnürt und schwärmen.

Die in der Zeitschr. f. Hyg., Bd. 29, 1898 erschienene interessante Arbeit von Berestnew in Moskau enthält in der deutschen Ausgabe nichts von thermophilen Aktinomyzetenarten; doch scheint die russische ausführlichere Publikation, die mir nicht zugänglich war, etwas derartiges zu enthalten. Wenigstens gibt Miehe an, dafs es Berestnew ist, der den Namen Actinomyces thermophilus eingeführt hat.

1899 beschrieb Fräulein Tsiklinsky (Ann. de l'Institut Pasteur, B. 13) zwei thermophile Aktinomyzesarten, die sie teils aus Mist, teils aus Gartenerde isoliert hatte und von denen sie eine Art Thermo-Actinomyces vulgaris nennt, während die andere ohne Namen bleibt. Die Beschreibung zeigt, dafs es sich um typische Aktinomyzeten handelt. Einige Jahre später hat die gleiche Verfasserin in den Ann. de l'Institut Pasteur, Bd. 17 aus dem Darmkanal noch zwei thermophile Aktinomyzeten beschrieben, welche Sporen in der Weise bilden, dafs die Enden der Fäden eine Anschwellung zeigen.

Sames beschrieb im Jahre 1900 in der Zeitschrift f. Hyg., Bd. 33 einen thermophilen Aktinomyzeten mit Wachstum zwischen 22 und 60°. Die Beschreibung ist eingehender als bei den meisten früheren Autoren.

1904 hat Gilbert im Laboratorium von Kruse einen Aktinomyzes aus dem Boden isoliert, der in vielem mit den bisher

beschriebenen Arten übereinstimmt und sich durch einen fruchtätherartigen Geruch seiner Kulturen auszeichnet. (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 47, 1904.) Auf seine eingehenden Beobachtungen über die Art der Sporenbildung komme ich unten zurück.

Miehe endlich hat ziemlich ausführlich im spontan erhitzten Heu einen Actinomyces beschrieben, den er Actinomyces thermophilus Berestnew nennt. Wie es die Arbeit von Miehe mit sich bringt, ist auf das Morphologische auch bei diesem Pilz weniger Wert gelegt, als auf das Biologische.

III. Der Streit der Autoren über die feinere Art der Sporenbildung.

Die älteren Arbeiten, die sich mit der Sporenbildung der Aktinomyzeten beschäftigen, fassen dieselbe als eine einfache Segmentation auf in dem Sinne, dafs sich die Fäden in Querstücke teilen durch Einwachsen der Membran. Dies ist der Standpunkt von Gasperini, Sauvageau und Radais.

Besondere Mühe, die feineren Vorgänge bei der Sporenbildung der Aktinomyzeten zu ergründen, gab sich Lachner-Sandoval. Er schrieb über Strahlenpilze im Jahr 1898. Die Arbeit ist unter Leitung von Prof. Levy in Strafsburg ausgeführt und kommt zu folgender Ansicht über die Sporenbildung: Die Seitenäste der Lufthyphen bekommen in regelmäfsigen Abständen eine geringe Einschnürung der Membran. Hierauf zerfällt jede Sporenhyphe in eine Reihe von gleichgrofsen viereckigen Feldern dadurch, dafs die Membran von beiden Seiten einwächst und den Faden zerteilt. Die Teilstücke runden sich zu Sporen ab.

In dem gleichen Laboratorium von Levy hat im Jahre 1902 Neukirch die Strahlenpilze abermals zum Gegenstand eineingehender morphologischer Studien gemacht, und ist dabei über das Wesen der Sporenbildung zu anderen Resultaten gekommen. Er gibt zunächst an, dafs die Bildung von Sporen aus dem Myzel nicht nur an besonderen Kurztrieben eintritt,

sondern dafs auch lange Fäden, die durch nichts besonderes ausgezeichnet sind, zu Sporen zerfallen. Der Vorgang ist in der Mehrzahl der Fälle succedan, indem die zuerst gebildeten gröfseren Stücke nachträglich weiter zerfallen, bis sich ungefähr isodiametrische Sporen gebildet haben. Neukirch fafst die Sporenbildung in den Fäden, wie in den Kurztrieben als einen Vorgang auf, der vom Plasma ausgeht und nicht durch Einwachsen von Membran eingeleitet wird. Es zerfällt durch Fragmentation der Protoplasmainhalt bald in regelmäfsig geformte, bald in unregelmäfsig geformte Stücke; im letzteren Falle teilen sich die Stücke später weiter. Bei genauer Betrachtung findet Neukirch die Plasmastücke stark lichtbrechend, zwischen denselben schwach lichtbrechende Fadenpartien. Warum diese schwach lichtbrechenden Stellen zwischen dem stark lichtbrechenden Protoplasma nicht als eingewachsene Membran aufzufassen ist, sagt er nicht. Für seine Ansicht, dafs die schwach lichtbrechenden Strecken zwischen den einzelnen Sporen inhaltleere Lücken sind, führt er an, dafs die Fadenmembran an diesen Stellen oft deutlich eingebuchtet ist, dafs sie durch Plasmolyse nicht verändert werden, dafs die Sporen aufserordentlich schwach miteinander verbunden sind und endlich würde sich nach seiner Ansicht »ein Faden bei der Fragmentation nicht so stark hin- und herkrümmen, wenn nicht der in ihm gleichmäfsig wirkende osmotische Druck in seiner Kontinuität unterbrochen würde. Dieser letztere Vorgang ist besonders an den Fäden schön zu beobachten, die über den Rand des hängenden Tropfens dem Deckglas entlang hinaufwachsen und durch Adhäsion eine Flüssigkeitsschicht mit sich ziehen. Bei der Fragmentation fällt die Sporenreihe unter starkem Hin- und Herkrümmen ja sogar unter Zerfallen der einzelnen mit der adhäierenden Flüssigkeitsschicht langsam in den Tropfen zurück.« Ich mufs gestehen, dafs mir das letztere Argument nicht ganz verständlich geworden ist. Es ist also nach Neukirch die Sporenbildung sowohl in den Kurztrieben, wie in den Fäden eine echte Fragmentation, während sie Lachner-Sandoval vier Jahre vorher für eine Segmentation erklärt hat.

Gilbert (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37) schliefst sich in seiner Auffassung wieder Lachner-Sandoval an. Seine Beschreibung ist allerdings kurz. Er spricht von einem dicker und stärker Lichtbrechendwerden einzelner Seitenzweige, welche sich später beiderseits vielfach einkerben ohne im Innern eine Veränderung zu zeigen. Bald jedoch sind die Sporen vollständig abgegeschnürt. Er erklärt den Vorgang allerdings ohne selbst deutliche Membran gesehen zu haben, welche die einzelnen Sporen voneinander trennen können, für eine Segmentation und wirft Neukirch vor eine Segmentation als Fragmentation fälschlich bezeichnet zu haben. In der Tiefe des Nährbodens sieht Gilbert den Vorgang etwa so, wie ihn Neukirch in den langen Fäden beschreibt und anerkennt dies als Fragmentation.

Auf die von Neukirch beschriebene aufserdem in der Tiefe des Nährbodens stattfindende Oidiensporenbildung, d. h. Bildung gröfserer ovaler durch deutliche Membran abgeschnürter Gebilde, bin ich nicht näher eingegangen, da weder Gilbert noch ich von denselben etwas gesehen haben, ohne damit natürlich die Existenz dieses Vorganges irgendwie bezweifeln zu wollen. Die Beobachtungen von Lachner-Sandoval und Neukirch sind nicht an thermophilen Aktinomyzeten gemacht. Gilbert scheint teilweise an thermophilen, teilweise an nichtthermophilen Aktinomyzeten gearbeitet zu haben.

Miehe hat die Sporenbildung nur nebenher untersucht. Er äufsert sich folgendermafsen: »Ich vermochte in einigen Fällen mit voller Sicherheit festzustellen, dafs die Sporen an ganz kurzen Stielchen seitlich an den Hauptästen entstehen. Man sieht dort eine fest sitzende glänzende fertige Spore und darüber eine junge Anlage. Die übrigen sind nach gefärbten Präparaten und zeigen ähnliches. Ob auch die längeren keuligen Seitenäste Sporenbildungen darstellen, will ich nicht entscheiden. Diese Art der Entstehung macht es unzweifelhaft, dafs es sich um Gebilde handelt, die man als Konidien bezeichnen mufs. Entscheiden konnte ich nicht, ob diese Abschnürung auch reihenweis hintereinander stattfinden kann. Die Beobachtungen und Abbildungen, die Gilbert von Actimonyces thermophilus gibt,

machen mir dies aber sehr wahrscheinlich. (Gilbert, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 47, S. 384, 1904.) Es wäre denkbar, dafs bei meinen Bildern die apikalen Konidien schon abgefallen sind und bei * eine junge Konidienhyphe hervorkommt. So würden sich unsere Beobachtungen in Einklang bringen lassen. Ich habe jedoch solche Bilder nicht zu Gesicht bekommen. Stets scheinen die Konidien recht vergängliche Gebilde zu sein, sie fallen leicht ab, so dafs die Art ihrer Entstehung nicht mehr festzustellen ist. Soviel glaube ich aber, ist als sicher anzunehmen, dafs die Sporen nicht im Innern von Scheiden entstehen und dann frei werden. Auch auf eine Segmentation in kurze Glieder nach Art der Oidienketten deuten weder meine noch Gilberts Befunde. Am ehesten würde man die seinigen mit der Entstehung etwa von Penizillium-Konidien vergleichen können.«

IV. Eigene Beobachtungen über Actinomyces thermophilus Berestnew.

Ich habe in der Einleitung gesagt, dafs das von uns verwendete befeuchtete Kleeheu, nachdem es 3 mal 24 bis 4 mal 24 Stunden in Zinkbüchsen eine Selbsterhitzung durchgemacht hatte (Temperatursteigerung bis 68°), regelmäfsig in auffallendem Grade von weifsen und graugrünen Pilzmassen überzogen war. Diese Rasen fehlten nicht ein einziges Mal. Die trockenen Partien des Büchseninhaltes waren besonders auffällig mit kreideweifsen oder intensiv graugrünen Massen überzogen. Ich spreche zunächst ausschliefslich von der weifsen Art, deren Zugehörigkeit zu der Gattung Actinomyces schon bei der ersten Untersuchung unzweifelhaft war. Stark verzweigtes Myzel, kurze, in Sporenreihen zerfallene Seitenzweige besonders üppig an der Oberfläche der Nährböden entwickelt, werden über die Deutung dieses Mikroorganismus nicht einen Augenblick Zweifel aufkommen lassen. Die Reinzüchtung hatte ich mir nach den Büchern aufserordentlich leicht gedacht; es schien zu genügen, einige Sporen auf einen genügenden Nährboden auszustreuen oder abzuklopfen, um Reinkulturen zu erhalten. Es zeigte sich aber,

dafs er nur kümmerlich auf gewöhnlichem Pepton-Fleischextraktagar und auf Kleedekoktagar wuchs. Viele angestellte Platten ergaben nur sporentragende Bazillen vom Typus des Bacillus calfactor Miehe, und Aktinomyzeskolonien waren entweder gar nicht oder in äufserst kümmerlicher Entwicklung zu sehen. Besser wächst der Organismus auf einem Dekokt aus selbsterhitztem Klee, dem 1 % Pepton und 1 % Agar zugesetzt war. Doch machte es im Anfang den Eindruck, als ob es auch auf diesem Nährboden besser in Symbiose mit dem thermophilen Bacillus calfactor gedeihe. Doch gelang nun die Reinkultur ohne besondere Schwierigkeit.

Junge Aktinomizeskulturen stellen ein reichlich radiär verzweigtes Myzelium dar ohne Querwände (Fig. 1). Die Äste gehen meist ziemlich rechtwinklig vom Mutterzweig ab und werden allmählich so zahlreich und selbst wieder so verzweigt, dafs eine filzige Pilzmasse entsteht. Ist der Organismus günstiger ernährt, so bilden sich an den Fäden kurze, seitenständige Hyphen von etwas gröfserem Durchmesser als der des Fadens, von dem sie entsprungen sind. Aus diesen Kurztrieben entstehen in unten genauer zu beschreibender Weise unter Einkerkern der Membran Ketten von meist fünf Sporen. Auf gewissen Nährböden bilden sich typische Lufthyphen, indem kürzere und längere Fäden schimmelpilzartig frei aus der Oberfläche des Nährbodens emporwachsen. Bilden sich an diesen Lufthyphen auch Sporen, so tritt an Stelle einer flaumigen eine kreideweifse Auflagerung. Ohne Lufthyphen ist der Anblick der Kultur glatt und saftig. Bei starken Vergröfserungen zeigt sich deutlich an Myzelien, Sporenhyphen und Sporen eine dicke Membran, welche das Protoplasma umgibt. Der Durchmesser eines Myzelfadens ist etwa 1 μ, wovon etwa 0,7 auf das Protoplasma, 0,3 auf die Membran kommt. Die Breite der Sporenhyphen und Sporen habe ich auf 1,4 μ bestimmt, wovon 0,4 auf die Membran kommt.

Der im Anfang nur auf Auszug aus erhitztem Klee mit Pepton und Agar wachsende Actinomyces liefs sich auf gewöhnlichen Peptonagar nur sehr zart und kümmerlich übertragen, auf gekochten Kartoffeln blieb das Wachstum vollständig aus.

Aber schon nach einer Woche fortgesetzter Kultur auf dem Kleeagar, liefs er sich mit besserem Erfolge auf andere Nährböden überimpfen. Er wuchs nun auf gewöhnlichem Fleischextrakt-Peptonagar mit oder ohne Zusatz von Glyzerin, Traubenzucker, Milchzucker als dicke, gelbliche, glänzende Oberflächenauflage, die sich später runzelte und nur selten kleine, weifse, durch Lufthyphen bedingte, flaumige Fleckchen zeigte. Der Rasen ist fest mit den oberen Schichten des Nährbodens verwachsen, so dafs es schwer ist ein Stückchen mit der Nadel zu entfernen. Im Stichkanal ist das Wachstum bescheiden. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, dafs auch bei Mangel von Luftmyzel Sporenketten sich bilden, wenn auch nicht so reichlich und so typisch wie auf Kleenährboden.

Auch der an die künstlichen Nährböden akklimatisierte Pilz wollte auf Nährboden aus Agar, Wasser und frischem Kleeheu bereitet nicht wachsen. Dies ist durch die Schwerlöslichkeit der Nährstoffe in dem Klee zu erklären, denn auf sterilem Kleeheu wächst er gut. Nur wenn bei der Überimpfung gröfsere Mengen Pepton-Fleischextraktagar mit übertragen werden, wurde Wachstum beobachtet. Auf Kartoffeln wuchs der Pilz jetzt auch gut. Auf Blutserum gedieh er gut mit saftigem, glänzendem, gelblichem Wachstum, aber ohne Lufthyphen und ohne das Blutserum zu verflüssigen; auf flüssigen Nährböden, z. B. Peptonbouillon, Glyzerin-, Dextrose- oder Laktosebouillon, auf flüssiger gewöhnlicher Fleischextrakt-Peptongelatine, auf Kleedekokt aus gegorenem Klee wächst der Aktinomyzes langsam in der Form gröfserer oder kleinerer wolkiger Kugeln, die im unteren Teil des Röhrchens liegen und aus einem Knäuel noch wachsender und sterbender Myzelien bestehen. Gelangen Teile an die Oberfläche der Flüssigkeit entweder bei der Impfung oder durch ein Umschütteln des Röhrchens, so kommt es zu reichlicher Lufthyphenbildung.

Gelatine, die mit dem Pilz beimpft einige Zeit bei 30° gestanden hat, erstarrt nicht mehr wie dies eine unbeimpfte Gelatine unter gleichen Bedingungen tut. Es wird also ein proteolytisches Ferment gebildet. Milch wird koaguliert; in sterilisiertem Wasser fand kein Wachstum statt.

Der Organismus braucht unbedingt etwas Sauerstoff zum Wachstum, doch kann er mit einer geringen Menge auskommen; z. B. wächst er im Stichkanal der Agarkultur und wenn auch kümmerlich in der Tiefe der Bouillon. In Schüttelkulturen, in Kleepeptonagar kam es immer nur zu einem Wachstum in den oberflächlichsten Schichten. Schon in einigen Millimetern Tiefe entwickelten sich keine Kolonien mehr. Für die Sporenbildung ist reichlicher Sauerstoffzutritt nötig.

Mein Actinomyces wuchs nicht mehr unter 30°; bei 37° ist das Wachstum gut, fast so gut wie bei 55; höhere Temperaturen stören das Wachstum, über 60° hört es auf. Eine merkwürdige Erscheinung war es, dafs bei niederen Temperaturen (37°) Stichkulturen ein besseres Wachstum im Stichkanal erkennen liefsen, als bei höheren Temperaturen (55°), während an der Oberfläche das Wachstum bei höheren Temperaturen eher ein bischen besser war. Ähnliches fand Sames (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 33), dafs sein thermophiler Actinomyces anaerob bei niederen Temperaturen besser wächst.

Die Sporenbildung, die, wie wir oben gesehen haben, in bescheidenem Mafse und ohne Bildung eigentlicher Lufthyphen auch auf Fleischextrakt-Peptonagar zustande kommt, wird begünstigt durch Zusatz von Extrakt aus gegorenem Klee zu den Nährböden. Weiter findet auf einem schrägen Agarnährboden die Sporenbildung zuerst an dem dünnsten Ende statt, wahrscheinlich, weil durch Austrocknen die Existenz des Pilzes an dieser Stelle am frühesten gefährdet ist, vielleicht auch, weil die Nährstoffe in der dünnen Nährbodenschicht am frühesten ausgehen. Interessant ist, dafs auf Pepton-Fleischextraktbouillon reichlich Sporen gebildet werden, dagegen nicht auf Fleischextrakt-Peptonagar. Man könnte als Erklärung hierfür etwa daran denken, dafs in der Bouillon und im Agar die zur Sporenbildung notwendigen Stoffe in gleicher Menge vorhanden sind, dafs sie aber aus der leicht beweglichen Bouillon dem Rasen leichter zugeführt werden, als in dem schwerbeweglichen Agar.

Meine Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Hitze haben mich sehr enttäuscht. Schon 20 Minuten

langes Erwärmen auf 75° tötete sie sicher, 5 Minuten bei 100° ebenfalls. Einige Monate alt nach ihrer vollen Entwicklung bei Zimmertemperaturen weiter aufbewahrte Kulturen zeigten grofsenteils abgestorbene Sporen. Miehe hat angegeben, dafs er seine Kulturen ziemlich oft neu gewinnen mufste, weil sie nicht mehr übertragbar waren. Ich habe in dieser Beziehung keine unangenehmen Erfahrungen gemacht. Die Färbbarkeit des Organismus ist grofs mit den gewöhnlichen Anilinfarben. Die Sporenhyphen und Sporen färben sich etwas stärker als die gewöhnlichen Myzelfäden, die Membrane bleiben deutlich ungefärbt. Weder Fäden noch Sporen zeigten irgendwelche Säurefestigkeit. Abgestorbene Teile des Myzels, abgestorbene Sporen blieben ungefärbt. Nach Zettnows Geiselfärbungsmethode färbt sich die Membran mit und die Sporen erscheinen dadurch viel gröfser. Ein geiseltragendes Jugendstadium konnte ich bis jetzt nicht beobachten. Die Fäden zeigen bei schwacher Methylenblaufärbung und Wasserspülung häufig metachromatische Körperchen, doch waren sie sowohl im Vorkommen als an Gröfse sehr unregelmäfsig (Fig. 3).

Ganz besondere Mühe habe ich mir gegeben die oben skizzierten Streitpunkte in Betreff der Sporenbildung aufzuklären. Die Untersuchung ist durch die Kleinheit des Objektes auch bei der Verwendung bester Mikroskope sehr schwierig.

Um gutes Sporenmaterial zur Untersuchung zu bekommen, ist es am besten ein Stückchen Kartoffel auf einen sterilisierten Objektträger zu legen und zu infizieren, wie dies Miehe angegeben hat. Der Pilzrasen wächst dann von der Kartoffel noch ein Stück weit auf das Glas hinüber, und nach Entfernung der Kartoffel hat man prächtig ausgebreitetes Untersuchungsmaterial, das die verschiedenen Stadien der Entwicklung an den älteren und neueren Partien der Myzelfäden aufs beste erkennen läfst. Ich habe sowohl an ungefärbten Präparaten als am Fuchsinpräparat meine Studien gemacht. Die Sporenhyphen sprossen rechtwinklig von dem Mutterfaden aus, erreichen eine Länge von ca. 7 μ, schwellen ein wenig an, sodafs sie den Mutterfaden etwas an Breite übertreffen und erlangen gleichzeitig eine erhöhte Färb-

barkeit. Etwas später färbt sich die Sporenhyphe nicht mehr in toto, sondern sie zerfällt nun, wie es scheint auf einmal, in 5 oder 6 Stücke, die in gefärbten Präparaten durch sehr dünne scheinbar farblose Querlinien getrennt sind. Die ziemlich viereckigen Fragmente runden sich ab, die Zwischenstrecken werden breiter und zeigen nun eine deutliche rosa Farbe, während dem die jungen Sporen eine sehr intensive, die Aufsenmembran gar keine Farbe zeigt bei Färbung mit Fuchsin. Die Aufsenmembran hat sich inzwischen etwas eingebuchtet entsprechend den blafsgefärbten Zwischenstrecken zwischen den Sporen. Die jungen Sporen zeigen sich manchmal gegen die helleren Zwischenstücke etwas konkav geformt, was ich als plasmolytische Erscheinung glaube deuten zu dürfen. Ich habe mich sehr bemüht, in den blafsgefärbten Zwischenstücken eine mittlere dunkle Querlinie zu sehen. Es gelingt dies auch dann und wann bei gewisser Einstellung. Doch glaube ich sicher in dieser Linie nur den optischen Ausdruck der Einziehung der Membran an der Stelle der Zwischenstücke sehen zu sollen (Fig. 5g). Nun schreitet die Einbuchtung der Membran weiter bis der Inhalt der Sporenhyphen aus einer Reihe gefärbter Kugeln besteht, die durch ein dünnes blafsgefärbtes Fädchen mit dem Rest der Zwischensubstanz verbunden sind. Endlich verschwindet auch das Fädchen, die Membran schliefst sich von beiden Seiten zusammen und es ist nun eine Sporenkette entstanden, die der leiseste Anstofs zerbricht (Fig. 5a—f). Ich erkläre mir diesen Befund, für den ich nach aufserordentlich vielfacher Untersuchung glaube mit Sicherheit einstehen zu können, folgendermafsen: Es ziehen sich primär gewisse Teile des Fadenprotoplasmas etwas zusammen, dazwischen entstehen Lücken, die mit schwach färbbarem Protoplasma erfüllt bleiben; diese Zwischensubstanz erscheint ungefärbt, solange sie spaltenartig schmal ist, schon aus optischem Kontrast. Später tritt die Färbung hervor indem sie breiter wird, durch starke Kontration der Protoplasmamasse der Sporen. Die unfärbbare Membran wächst erst allmählich, sekundär zwischen die Spaltstücke des Protoplasmas hinein und umhüllt sie. Meine Deutung stimmt also mit der von Neukirch durchaus überein, obwohl wir ver-

schiedene Spezies untersucht haben. Man könnte noch einwenden, dafs meine Beobachtungen am gefärbten Präparat durch plasmolytische Vorgänge beeinträchtigt worden seien. Ich kann aber versichern, dafs auch das ungefärbte Präparat alle Stadien, die ich beschrieben habe, erkennen läfst, nur läfst es über die wichtige Frage im Zweifel, ob die Querstellen zwischen den Sporen Membran oder Protoplasma sind. Erst die Tatsache, dafs sich diese Zwischenstrecken färben, wenn auch schwach, spricht für ihre Protoplasmanatur. Im ungefärbten Präparat kann man tatsächlich im Zweifel sein, ob man nicht in den Zwischenstücken primäre Membranbildungen vor sich hat (Fig. 6).

Ich habe eben den Vorgang der Sporenbildung beschrieben, wie er auf Kartoffeln oder Kleedekokt-Peptonagar vorkommt. Auf gewöhnlichem Peptonagar mit oder ohne Zusatz von Glyzerin oder Zucker kommt ebenfalls Sporenbildung vor, aber sie ist nicht ganz normal. Die Sporen zeigen nicht die regelmäfsige Gröfse, die ich eben beschrieben habe, sondern es werden in einer Reihe winzig kleine neben anderen von erheblichem Umfang gefunden, oder es werden auch nur ganz kurze und rudimentäre Sporenketten von 1 oder 2 Gliedern gebildet (Fig. 7).

Auch bei meinem Actinomyces kommt neben der eben beschriebenen Bildung typischer Fragmentationssporen ein Zerfall des Protoplasmas bei längeren Fäden in kürzere oder längere Stücke vor, ein Prozefs, der von vielen Autoren namentlich Boström als Fragmentationssporenbildung beschrieben ist. Ich mufs gestehen, dafs ich bei meinem Actinomyces mich nicht recht davon überzeugen konnte, dafs es sich hier um eine Sporenbildung handelt. Ich hatte immer nur den Eindruck eines Zerfalles, aber nicht den einer Sporenbildung. Doch mag gerne zugegeben werden, dafs andere Arten sich hier anders verhalten, und dafs die Sporenbildung, die bei meinem Actinomyces an ausgezeichneten Kurztrieben vorkommt, bei anderen Arten in weniger differenzierter Weise an allen möglichen Fäden eintreten kann. Was ich bei meiner Art gesehen habe, waren unregelmäfsige Protoplasmastücke, deren Enden nicht scharf begrenzt sind, zwischen denen bald gröfsere bald kürzere Lücken sind, kurz, Bilder, die

den Eindruck machten, als ob das Protoplasma aus den betreffenden Fäden im Schwinden begriffen sei (Fig. 2). Nur mit einem Wort will ich erwähnen, dafs es mir nicht gelungen ist, die von Neukirch beschriebene Oidiensporenbildung in der Tiefe der Flüssigkeit zu sehen, womit ich in keiner Weise die Angaben dieses Autors, die ich ja in anderen Punkten vollauf bestätigen kann, bezweifeln will.

Ich gehe nun zu der schwierigen Frage über, wie ich meinen Aktinomyzes nennen soll. Miehe nennt den seinigen Actino-

Übersichts-

	(H. Z.) 8 Globig	(Arch. Hyg.) 27 Kedzior	(Ann. Past.) 13 Tsiklinsky Thermoactinomyces vulgaris	(Ann. Past.) 13 Tsiklinsky	(Z. H.) 33 Sames
Gröfse des Myzels		0,7 μ	0,5 μ	1,2—1,5 μ	0,3—0,5 μ
Gröfse der Spore		1,0 μ			0,5—0,8 μ
Einzelligkeit					
Runde Sporen	+	+	rund + oval		rund + oval
Sporenbildung reihenweise		—	—	+	+
Sporenbildung in der Tiefe von flüssigen Nährböden			+		
Sporenbildung von weiss, verfärbt in		grün			mausgrau
Sporen leicht färbbar	—	—	—	+	—
Sporen säurefest		+			+
Beweglichkeit von Sporen oder Myzel		+			—
Wachstum bei 37°		+	nicht unter 48	nicht unter 48	+
Wachstum unter 30°		—	—	—	+
Wachstum auf Kartoffel		+	+		+
Lufthyphenbildung auf Fleisch-Peptonagar		+	+		+
Anaerobiose		+	—	+	+
Lebensdauer der Sporen bei 100°		4 Stdn.	20 Min.	5 Min.	10 Sek
Gelatine verflüssigt			+	—	+
Milch koaguliert			+		+

myces thermophilus Berestnew, und da der meinige mit dem seinigen in allen wesentlichen Punkten übereinstimmt, so behalte ich diesen Namen vorläufig bei, wenn ich auch nicht in der Lage bin, die Angaben von Berestnew zu kontrollieren. Die Arbeit von Berestnew in der Zeitschrift für Hygiene enthält, wie oben bemerkt, diesen Namen nicht. Interessant ist es, wie verschieden die Angaben der einzelnen Autoren über ihre thermophilen Aktinomyzeten sind.

Tabelle.

(Ann. Past.) 17 Tsiklinsky I	(Ann. Past.) 17 Tsiklinsky II	(Z. H.) 47 Gilbert	(Jena 1907) Miehe	Schütze	(Ann. Past.) 18 Tsiklinsky Thermomyces lanuginosus	(Jena 1907) Miehe Thermomyces lanuginosus	Schütze Actinomyces monospor.
		0,5—0,6 μ	0,4 μ	1 μ	3,0 μ	1,5—3,0 μ	1 μ
		0,8—1,0 μ		1,4 μ	9,0 μ	6,0—10,0 μ	1,8 μ lang
				+		—	+
			+	+			oval
—	—	+	+	+	—	—	—
		—	—	—			—
		grau	braun-gelblich	creme	dunklere Farbe	grau-grünlich	grau-grünlich
+	+			+	+		+
		+		—			—
				—			—
+	nicht unter 45	+	+	+	nicht unter 42	+	+
+	—	+	—	—	—	—	+
+		+	+	+		+	—
		—	—	—		+	—
—	—	—		—			—
			10 Min.	5 Min.	1 Min.		5 Min.
+	—	+	+	+	+		+
+	—	+		+	+		—

V. Eigene Untersuchungen über Actinomyces monosporus Lehmann und Schütze.

Es ist schon gesagt, dafs ich gleichzeitig mit dem Actinomyces thermophilus Miehe, der weifse bis graugelbliche Sporenlager bildet, eine zweite Aktinomyzesart beobachtet habe, die sich durch blaugrüne Sporenlager auszeichnet, genau von der Farbe des Penicillium glaucum. Ich bemerke schon hier, dafs es mir nicht gelungen ist, diese weitverbreitete Art mit einer in der Literatur beschriebenen zu indentifizieren. Namentlich scheint Miehe, der doch das gleiche Material untersuchte wie ich, die Art nicht in Händen gehabt zu haben. Ich hegte kurze Zeit die Meinung, dafs mein Organismus mit dem Thermomyces lanuginosus Tsiklinsky, den Miehe regelmäfsig gefunden hat, identisch sei, mufste aber auf Grund genauer Vergleichung von dieser Ansicht abkommen.

Ich gebe zunächst die Beschreibung der Darstellung meiner Beobachtungen.

Die Isolierung des Pilzes machte ähnliche Schwierigkeiten wie die des Actinomyces thermophilus. Auch hier war es schwer, den Pilz von hitzebeständigen Sporen, von Bazillen, sowie von dem Actinomyces thermophilus selbst zu trennen. Das aus Sporen gewachsene selbst einzellige, verästelte Myzel unterscheidet sich nicht von Actinomyces thermophilus (Fig. 1). Das Myzel hat etwa 1 μ Dicke. Die graugrüne Auflagerung älterer Kulturen besteht aus Lufthyphen, welche Sporen tragen, aber stets nur eine einzige von ovaler Form 1,8 μ lang, 1,4 μ breit. Die einzelne Spore ist durch ihre ovale Form und etwas bedeutendere Gröfse von denen des Actinomyces thermophilus zu unterscheiden, und ungefärbt leicht mit Bazillensporen zu verwechseln. Ich habe den Pilz kultivieren können auf sterilisierten vergorenen Kleepartikelchen und auf Peptonagar mit Auszug aus vergorenem Klee, auf gewöhnlichem Peptonagar, auf Peptonagar mit Zusatz von Auszug aus unvergorenem Klee, aber nicht auf Agar, der mit Auszug aus unvergorenem Klee bereitet wurde. Wie bei Actinomyces thermophilus erwähnt, sind Nährstoffe wegen Schwerlöslichkeit zu wenig vorhanden.

Niemals ist es mir gelungen, den Organismus auf der Kartoffel wachsen zu sehen. Auf Peptonagarplatten bilden sich kleine, runde oberflächliche Kolonien mit gefranstem Rande, welche langsam gröfser werden, gelbliche Farbe, etwas erhabenes Wachstum und eine glänzende Oberfläche zeigen. Ältere Kulturen zeigen Falten und Wülste. Lufthyphen fehlen auf diesem Nährboden. In Stichkulturen ist das Wachstum im Stichkanal gering, das Oberflächenwachstum gut. Auf erstarrtem Blutserum wächst er üppig, glatt, saftig und verflüssigt rasch den Nährboden. Gelatine wird verflüssigt. Auf flüssigem Nährboden wächst er in der Tiefe in wolkigen Kugeln ähnlich wie Actinomyces thermophilus. Nur im Traubenzuckerbouillon war das Wachstum schlecht. Sporen werden dabei nirgends gebildet. In sterilem Flufswasser wächst er nicht, Milch gerinnt nicht. Der Organismus braucht Sauerstoffzutritt, ist ausgesprochen aerob, Schüttelkulturen zeigen nur ganz oberflächliches Wachstum. Das Optimum der Temperatur ist 55°, bei 37° ist das Wachstum fast ebensogut, bei 27° ist es sehr langsam, über 60° kommt kein Wachstum mehr zustande. Wie bei Actinomyces thermophilus wurde auch hier konstatiert, dafs das Sauerstoffbedürfnis des Pilzes durch verschiedene Temperaturen beeinflufst wurde. Stichkulturen gleichen Alters, die bei 27 und 55° gewachsen sind, zeigen ganz deutlich bei 27° ein viel geringeres Oberflächenwachstum als die bei 55° gehalten, während umgekehrt die bei 27° gewachsenen Kulturen ein stärkeres Wachstum im Stich zeigten als die bei 55° gehaltenen, Es mag hier erwähnt sein, dafs es mir gelang auch von einem dritten thermophilen Organismus diesmal einen echten Bazillus den gleichen Einflufs der Temperatur auf das Wachstum an der Oberfläche oder in der Tiefe zu konstatieren. Nach Auffassung von Herrn Prof. Lehmann ist die wahrscheinlichste Erklärung für den Vorgang wohl die, dafs bei genügendem Sauerstoffzutritt Wärme das Wachstum begünstigt, also starkes Oberflächenwachstum bei höherer Temperatur. Das stärkere Wachstum im Stich bei niederer Temperatur erklärt sich durch die Unfähigkeit des Agars, bei höherer Temperatur genügende Sauerstoffmengen zu absorbieren, während-

dem er dies bei niederer Temperatur in viel vollständigerem Mafse vermag. Es spricht für die Richtigkeit der Erklärung, dafs der Unterschied bei Actinomyces monosporus besonders grofs war zwischen 27 und 55°, viel gröfser als wie zwischen 37 und 55°.

Ich habe darauf auch einige nicht thermophile Organismen Bacillus anthracis, Vibrio cholerae und Bakterium typhi in Stichkulturen bei 22 und 37° verglichen, in der Hoffnung, zu finden, dafs bei niederer Temperatur das Wachstum im Stich begünstigt sei; es ist mir nicht gelungen. Ich kann dies vorläufig so erklären, dafs der bei 37° vorhandene Sauerstoffgehalt noch zu einem genügenden Wachstum ausreicht.

Sporenbildung bleibt aus auf Peptontraubenzuckeragar. Dagegen habe ich merkwürdigerweise auf Peptonagar, Glyzerin-Peptonagar und Laktose-Peptonagar eine ganz gute, wenn auch etwas verlangsamte Sporenbildung beobachtet. Besonders schön ist die Sporenbildung auf Kleedekokt-Peptonagar, gleichgültig ob der Klee gegoren hatte oder nicht. Wenn man das Pepton weglassen will, mufs man aber gegorenen Klee zur Agarbereitung verwenden, sonst bleibt nicht nur die Sporenbildung, sondern sogar das Wachstum aus. Sowie Sporenbildung stattfindet, färben sich die Rasen, wie oben bemerkt, schmutzig grün, auch der Nährboden nimmt allmählich eine dunkle braune bis schmutzig grüne Farbe an. Tyrosinzusatz zum Nährboden steigerte die Pigmentbildung nicht, sie scheint also durch eine Tyrosinase nicht bedingt zu sein. Auf der Oberfläche von Bouillon und Dekokt aus gegorenem Klee ist ebenfalls Sporenbildung zu erreichen. Bevor die Sporenbildung eintritt, bedeckt sich der glatte Rasen mit schönem weifsen, flaumigen Luftmyzel, dann erst bilden sich die graugrünen Sporen. Während ich bei Actinomyces thermophilus öfter Sporenbildung ohne Lufthyphen beobachtet habe, ist mir dies bei Actinomyces monosporus niemals gelungen. Die Sporen ertragen 75° 40 Minuten lang, nach 5 Minuten bei 100° sind sie getötet. Myzel und Sporen färben sich leicht mit Anilinfarbstoffen und nach Gram, doch bleibt die Membran ungefärbt, so dafs man in gefärbten Präparaten die

Gröfse leicht unterschätzt. Weder Myzel noch Sporen zeigen Säurefestigkeit.

Die feineren Vorgänge der Sporenbildung sind die folgenden: Es entstehen auf geeigneten Nährböden vertikale Lufthyphen, aus denen kurze Seitenzweige in grofser Zahl hervorbrechen. Die Seitenzweige nehmen ovale Form an, zeigen eine verstärkte Färbbarkeit und bald darauf ist eine ovale tieffärbbare Spore ausgebildet, die durch einen ganz kurzen, schwächer gefärbten Stil mit dem Myzelium verbunden ist. Junge Sporen sind noch weifs; sowie sie vollkommen von dem Myzel abgeschnürt sind und ihre Reife erlangt haben, tritt der eigentümliche Geruch und die grüne Farbe auf. Niemals habe ich eine reihenweise Sporenbildung gesehen. Doch habe ich 1 oder 2 mal beobachtet, dafs sich an einem Seitensprofs zwei Sporen entwickeln. Es sah aus, als ob der Sprofs durch eine Art Mifsbildung zu lang für eine Spore ausgefallen wäre und deshalb zu zwei Sporen zerfiel. Ich bin geneigt, diesen Vorgang für eine Fragmentation zu halten, doch habe ich ihn nie so genau verfolgen können, wie bei Act. thermoph. (Fig. 8).

In der Tiefe von flüssigen Nährböden kommt keine Sporenbildung vor, nur als Absterbeerscheinung eine Zerstückelung des Fadeninhaltes und ein allmähliches Verschwinden desselben (Fig. 2).

Wenn ich zum Schlusse über die Benennung dieses Pilzes meine Meinung aussprechen darf, so geht sie dahin, dafs der Organismus ziemlich stark und auffällig von dem Actinomyces thermophilus verschieden ist, sodafs, wenn man weiter keine Aktinomyzeten kennte, man sie leicht der verschiedenen Ausbildung ihrer Sporen wegen in zwei Gattungen einreihen könnte. Ehe aber von den vielen anderen Aktinomyzeten genauer untersucht ist, ob die Sporen in Reihen oder einzeln entstehen, wäre eine solche Teilung verfrüht.

Ich habe nach Abschlufs meiner Arbeit begonnen mich solchen Studien zu widmen, kann aber bisher nur über Actinomyces chromogenus, Gasperini, nähere Angaben machen. Die Sporen werden hier in langen Reihen von nicht besonders differenzierten, längeren oder kürzeren Lufthyphen abgeschnürt. Inter-

essant ist, dafs manchmal verzweigte Sporenketten auftreten; es scheint als ob jeder in die Luft ragende Faden zu Sporen zerfallen könnte. Den feineren Vorgang des Fadenzerfalls habe ich nicht studiert.

Den eben beschriebenen Organismus kann ich mit keinem der in der Tabelle aufgeführten Aktinomyzeten bei der unvollständigen Art ihrer Beschreibung sicher identifizieren; jedenfalls stimmt er auf keinen benannten, am ehesten auf den Thermoactinomyces vulgaris von Tsiklinsky. Doch ist dieser Organismus so gering beschrieben und durch seine aufserordentlich widerstandsfähigen Sporen so von meinem verschieden, dafs mir eine Identifizierung nicht möglich scheint. Wir haben ihm deswegen den Namen Actinomyces monosporus gegeben.

Der von Tsiklinsky beschriebene und von Miehe häufig gefundene Thermomyces lanuginosus hat, wie schon eingangs bemerkt, nur äufsere Ähnlichkeit. Er bildet zwar graugrüne Rasen und ist thermophil, hat ein verzweigtes Myzel, aber das Myzel ist bei Thermomyces lanuginosus vielzellig, die Dicke 1,5—3 μ. Die Sporen besitzen 6—10 μ statt 1,8 μ und eine deutliche höckerige Oberfläche. Das Bild, das Miehe von der Sporenbildung des Thermomyces gibt, hat auf den ersten Blick ebenfalls manche Ähnlichkeit. Es ist ein Faden, aus dem ganz kurze Seitenzweige hervorkommen, die je eine Spore tragen. Doch sind die Dimensionen des ganzen Objektes mindestens 2—4 mal die des meinigen. Es bleibt mir auffallend, dafs ich den Thermomyces und Miehe den Actinomyces monosporus nicht gefunden habe, und dafs unsere Pilze doch gewisse habituelle Ähnlichkeiten zeigen. Es ist mir unmöglich, diesen Widerspruch zu lösen. Da ich mit Kleeheu gearbeitet habe und Miehe mit gewöhnlichem Heu, so könnte das ja die Sache vielleicht erklären.

Hauptresultate.

1. In gegorenem Kleeheu fand ich regelmäfsig zwei charakteristisch verschiedene Aktinomyzeten, die als Actinomyces thermophilus (Berestnew?) und Actinomyces mono-

sporus (Lehmann und Schütze) bezeichnet sind; den Thermomyces lanuginosus konnte ich nicht finden.

2. Die Organismen sind thermophil, die Sporen auffallend wenig widerstandsfähig gegen hohe Temperaturen.
3. Die bisher beschriebenen thermophilen Aktinomyzeten sind nach den Beschreibungen sehr schwer miteinander zu identifizieren. Weitere Studien dieser Gruppe dürften noch manches Interessante ergeben.
4. Thermophile Arten scheinen ganz allgemein in Stichkulturen bei höherer Temperatur an der oberen Grenze ihres Wachstums besser an der Oberfläche aerob, bei niedrigeren Temperaturen besser als bei hohen im Stichkanal zu wachsen. Es erklärt sich dies dadurch, dafs nur bei niedrigen Temperaturen der Agar genügende Sauerstoffmengen für die Entwicklung des Organismus aufzunehmen vermag.
5. Möglichst sorgfältige Untersuchungen der feineren Vorgänge der Sporenbildung haben dieselbe bei Actinomyces thermophilus als eine Fragmentation und nicht als eine Segmentation auffassen lassen.

Am Schlusse erübrigt mir noch die angenehme Pflicht, meinem hochgeschätzten Lehrer, Herrn Professor K. B. Lehmann, für das grofse Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat, und für seine Unterstützung dabei meinen aufrichtigsten Dank abzustatten.

Einige Monate nach Vollendung dieser Arbeit gab der Wunsch, mehrere Stämme der zwei Arten zu isolieren, Gelegenheit, die gleichen Isolierungsschwierigkeiten nochmals kennen zu lernen. Dabei wurde die merkwürdige Beobachtung gemacht, dafs jetzt nur Actinomyces monosporus und keine Spur des Actinomyces thermophilus auf dem Klee zum Wachstum kam, obwohl der Klee von demselben Vorrat stammte wie früher.

Erklärung der Abbildungen.

I. Junges Aktinomyzespflänzchen.
II. Absterbendes Mycelium mit zerstückeltem Protoplasma.
III. Mycelium mit metachromatischen Körnchen.
IV. a) Sporenbildung des Actinomyces thermophilus im ungefärbten Präparat.
V. a—f) Sporenbildung des Actinomyces thermophilus von gefärbtem Präparat.
g) Eine Sporenhyphe, welche die Querwand ähnliche Schatten an zwei Stellen zeigt.
h) Sporen des Actinomyces thermophilus.
VI. Schematische Darstellungen der Sporenbildung bei Actinomyces thermophilus.
m = Membran,
p = Protoplasma.
l = Lücken zwischen den zurückgezogenen Protoplasmastücken.
VII. Abnormale Sporenbildung des Actinomyces thermophilus auf Fleischpeptonagar.
VIII. a) Anfangsstadium der Sporenbildung bei Actinomyces monosporus.
b) Späteres Stadium der Sporenbildung bei Actinomyces monosporus.
c) Sporen des Actinomyces monosporus.

Neue Untersuchungen über die quantitative Absorption einiger giftiger Gase von Tier und Mensch durch den Respirationstraktus und seine Teile.

(Ammoniak, Salzsäure, Schweflige Säure, Essigsäure, Schwefelkohlenstoff.)

Nach in Gemeinschaft mit den Herren Dr. Willke[1]) aus Hildesheim, Dr. Jiro Yamada[2]) aus Japan und Dr. Joseph Wiener[3]) aus Bingen ausgeführten Untersuchungen mitgeteilt[4])

von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

I. Einleitung und allgemeine Methodik.

Die Frage nach der quantitativen Aufnahme der giftigen Gase und dem Orte der Aufnahme beim Menschen und Tiere ist bisher sehr wenig bearbeitet. Im Band 17. des Archivs für Hygiene habe ich meines Wissens zum ersten Mal von einigen wichtigen Gasen nach zwei verschiedenen Methoden die Absorption bei kurz dauernder Einatmung festzustellen gesucht. Meine Versuchsanordnungen waren darnach die folgenden beiden:

I. Aspirationsmethode. Es wurde gleichzeitig die Inspiratonsluft eines Menschen, der in einem Kämmerchen Luft mit

---

1) Johannes Willke, Über die Aufnahme des Ammoniaks in Gasform durch die Atemluft usf. Dissertation 1905.

2) Jiro Yamada, Untersuchungen über die quantitative Absorption einiger Säuren durch Tier und Menschen. Dissertation 1905.

3) Joseph Wiener, Studien über die quantitative Absorption der Schwefelkohlenstoffdämpfe vom Respirationstraktus aus. Dissertation 1906.

4) Eine vorläufige Mitteilung habe ich gemacht auf der Naturforscherversammlung in Stuttgart. September 1906.

einem gewissen Gehalt an dem giftigen Gase atmete, und die Exspirationsluft desselben Menschen untersucht. Die Inspirationsluft analysierte ich dadurch, dafs ich in der Nähe der Versuchsperson einen Apparat aufstellte, welcher während der ganzen Versuchsdauer eine gewisse Menge Luft durch geeignete Absorptionsgefäfse hindurchsaugte.

Die Exspirationsluft wurde dadurch untersucht, dafs die Versuchsperson durch die Nase einatmete, und durch den Mund durch eine Röhre mit zwei Ausblaseöffnungen am entgegengesetzten Ende exspirierte. An die eine dieser Öffnungen waren zwei hintereinandergeschaltete Absorptionsgefäfse und ein Aspirator angesetzt. Die andere Öffnung war mit einem Schlauch versehen, den die Versuchsperson zwischen den Fingern hielt. Der Aspirator saugte während der ganzen Versuchsdauer einen gemessenen Teil der Exspirationsluft an. Der Schlauch diente als Ventil bei der Exspiration; liefs man nämlich bei der Exspiration mit dem Fingerdruck nach, so entwich der nicht vom Aspirator angesaugte Teil ins Freie. Bei der streng nasalen Inspiration wurde der Schlauch geschlossen gehalten. Nach dem zirka 10 l Exspirationsluft durch die Absorptionsapparate gegangen waren, wurde der Versuch abgebrochen und der Gehalt der Inspirations- und Exspirationsluft miteinander verglichen.

II. Flaschenmethode. Zwei Flaschen von 3 Liter Inhalt wurden in Wasser von 37° versenkt und nun wurde gleichzeitig in die eine mit Hilfe eines Blasebalgs Zimmerluft d. h. Inspirationsluft und in die andere mit dem Munde, während nasal inspiriert wurde, Exspirationsluft geblasen. Nach 7 Minuten Versuchsdauer wurde angenommen, dafs die Flaschenluft vollständig durch die Zimmerluft respektive Exspirationsluft verdrängt sei, und nun ein geeignetes Reagens in die Flaschen eingefüllt und der Gehalt derselben an dem giftigen Gas bestimmt. Die Versuche wurden damals mit Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Chlor, Brom und Schwefelkohlenstoff angestellt. Die letzteren entsprachen noch nicht strengeren Anforderungen.

Zu diesen beiden älteren Methoden kamen bei der diesmaligen Untersuchung noch folgende:

III. Für Menschenversuche »die Waschflaschenmethode«. Der Mensch atmet durch eine Waschflasche ein, die mit einer wässrigen Auflösung des fraglichen Gases gefüllt ist, und atmet in einige Waschflaschen aus, die ein geeignetes Absorptionsmittel enthalten. Es sind dabei 3 Arten von Gasaufnahmen möglich:

a) Buccale Inspiration in die Lunge,
b) Nasale Inspiration in die Lunge,
c) Einsaugen in die Mundhöhle und Ausblasen aus der Mundhöhle wie beim Rauchen (Rauchversuche).

Bei all diesen Modifikationen haben wir bei der »Waschflaschenmethode« auf jeden Atemzug resp. Rauchzug aus der Giftanlage und die entsprechende Exspiration in die Absorptionsvorlage 2 Inspirationen aus der freien Luft folgen lassen und die betreffenden Exspirationen nur anfangs auf einen Gehalt an dem fraglichen Gase untersucht, weil — wie ich vorgreifend hier bemerke — niemals sich ein nennenswerter Gehalt in diesen Zwischenatemzügen nachweisen liefs.

IV. Für Tierversuche »die Methode der Müllerschen Ventile«. Verbindet man nach Fig. 1 (S. 93) Waschflaschen mit dem Respirationsapparat eines Tieres, so findet durch Flasche 1, 2, 3 die Inspiration, durch 4, 5 die Exspiration statt; 1, 2, 3 wird mit der wässrigen Gaslösung, 4, 5 mit dem Absorptionsmittel beschickt. Das Tier kann entweder durch Röhrchen, die in die Nase luftdicht eingesetzt werden, oder einfacher durch eine Trachealkanüle atmen. Im einzelnen sind mancherlei Differenzen in der Versuchsanordnung notwendig, die im speziellen Teil beschrieben werden. Die Methode gibt den Gesamtgehalt des giftigen Gases in der Inspirations- und Exspirationsluft während einer bestimmten Zeit ohne Zwischenschaltung von Reinluftatmung.

Da ich Wert darauf legte, nebenbei wenigstens annähernd die Gaskonzentrationen kennen zu lernen, welche die Tiere atmeten, so galt es nicht nur die absolute Menge des Gasgehalts der Inspirations- und Exspirationsluft zu messen, sondern auch womöglich deren Volum zu kennen. Ich wagte aber nicht das gesamte Volum der Exspirationsluft während der Versuchsdauer

bestimmen zu lassen, indem ich sie auffing, denn ich befürchtete davon ein Respirationshindernis. Dagegen ermittelten wir von jedem Tier zu Beginn des Versuchs, ehe es das giftige Gas atmete, das Volum dei Exspirationsluft (gemessen bei Zimmertemperatur) während 5 Minuten und nahmen an, dafs diese Luftmenge auch während des Versuchs etwa gleich bleibe und dafs sich bei einer etwaigen Steigerung der Atemfrequenz die Tiefe der Atemzüge vermindere und umgekehrt. Die pro Minute auf diese Weise ermittelten Atemvolumina schwanken für Kaninchen von 1300—3400 g etwa von 190—600 cc, Werte von 350—400 cm dominieren. Kann ich auch die mit Hilfe dieser Zahlen jedesmal ermittelten »Konzentrationen der Inspirations- und Exspirationsluft« nicht für genau halten, so geben sie doch wohl in der grofsen Mehrzahl der Fälle einen brauchbaren Anhaltspunkt.

Die 4 Methoden sind nicht bei allen Gasen ganz gleichmäfsig angewendet, vielmehr immer die, welche besonders geeignet erschienen; auch die Spezialfragestellung geht bei den einzelnen Fragen verschieden tief ins Detail, es bleibt noch viel zu tun.

2. Untersuchungen über Ammoniakabsorption.

Meine 4 früheren Versuche (l. c.) nach der Aspirationsmethode hatten bei einem genau bestimmten NH_3 Gehalt der Inspirationsluft von 0,23—0,31 ‰ eine Absorption von 86—88% ergeben, nur einmal als an einen viertelstündigen Versuch ein 2ter sofort angeschlossen wurde, sank die Absorption auf 77%. Meine 3 alten Versuche nach der Flaschenmethode gaben 85, 86,5 und 90% Absorption, stimmten also vortrefflich. Ein Bedürfnis nach Wiederaufnahme der Versuche nach diesen Methoden lag für das Ammoniak für mich nicht vor, ich begann dieselben mit Herrn Willke vielmehr in folgender Absicht:

1. Es soll die Absorption von NH_3 durch den Menschen nach einer neuen Methode (Methode 3: Waschflaschenmethode) geprüft werden und zwar bei nasaler und buccaler Atmung — meine früheren Versuche waren alle bei nasaler Atmung gemacht.

2. Es soll gesehen werden, welche NH_3 Mengen die Mundhöhle allein absorbiert bei einer dem Rauchen nachgebildeten Aufnahmeart.
3. Es soll studiert werden, ob die Lunge bei möglichstem Ausschlufs der Zuführungswege also auch der Trachea Ammoniak absorbiert.

Bei meinen früheren Menschenversuchen hatte, wie ich ausführte, die Lunge keine Gelegenheit gehabt Ammoniak aufzunehmen, weil, dem Gefühle nach zu schliefsen, Ammoniak nur in Spuren über den Kehlkopf hinausdringt — es wird eben fast alles in Nase und Mundhöhle absorbiert. Nun hat inzwischen R. Magnus aus dem Laboratorium von Gottlieb in Heidelberg (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. XLVIII) die überraschende Angabe publiziert, dafs das Lungenepithel für Ammoniak überhaupt undurchlässig ist. Er beweist dies — wie mir scheint einwandfrei — für den Fall, dafs man reichlich freies Ammoniak ins Blut bringt. Bei verschiedenen Modifikationen des Versuchs bleibt die Exspirationsluft immer ammoniakfrei. Dadurch ist mir aber noch lange nicht bewiesen, dafs auch umgekehrt aus der Atemluft kein Ammoniak durch die Lunge aufgenommen werden kann — direkte Versuche erschienen erwünscht. Allerdings war von vornherein klar, dafs sich nur die Trachea nicht aber die Bronchien als Absorptionsstellen ausschalten liefsen.

Ich schildere zunächst die Rauchversuche mit Ammoniak nach der Waschflaschenmethode. Die Versuchsperson saugte durch eine mit 100 cc schwachen Ammoniakwassers ($^1/_{10}$—$^3/_{10}$ Normalammoniak gefüllte Waschflasche) zirka 50 cc Luft ein, nnd blies dieselbe dann, nachdem sie einige Sekunden in der Mundhöhle verweilt hatte, durch eine mit 10 cc $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure gefüllte zweite Waschflasche aus. Hierauf wurden hintereinander zwei Atemzüge aus der Zimmerluft durch die Nase aufgenommen und immer mindestens ein Teil jedes Atemzugs durch eine in ein Nasenloch gesteckte Glasröhre durch eine besondere mit Nesslerschem Reagens gefüllte Vorlage ausgeatmet. Wir wollten dabei sehen, ob nach jedem Rauchzug noch gewisse

Mengen von Ammoniakgas in der Mundhöhle zurückblieben, welche, indem sie in die Exspirationsluft übergingen, sich der Bestimmung entzögen. Wir haben, um dies gleich hier vornwegzunehmen, aber niemals in der Exspirationsluft bei den Rauchversuchen mehr wie Spuren von Ammoniak gefunden, Spuren, die bei den Resultaten unserer Versuche vernachlässigt werden konnten. Das »Rauchen« wurde 20 Minuten streng nach der Uhr in der Weise ausgeführt. In der Minute wurden 6 Rauchzüge und zwischen jedem 2 Atemzüge ausgeführt. Von der Versuchsperson wurden alle Störungen während des Versuchs sorgfältig fern gehalten.

Am Ende des Versuchs wurden 2 mal 10 cc des vorgelegten Ammoniaks und hierauf die 10 cc nachgeschaltete Schwefelsäure titrimetrisch unter Verwendung von Luteol sorgfältig untersucht.

Aus der Tabelle I (S. 63) folgt ein sehr klares Resultat. Von der Ammoniakmenge die in den Mund eintrat, verschwand ein sehr beträchtlicher Teil, 83,5—90,5 im Mittel 86,5% und der verschwundene Teil war zum grofsen Teil (63%) im Speichel wieder zu finden.

Eine Wiederholung dieser Rauchversuche durch Herrn Biederbeck in meinem Institut ergab eine vortreffliche Übereinstimmung (Tab. II).

Tabelle II.

Vorgelegt ccm $\frac{n}{10}NH_3$	In d. NH_3-Vorlage geblieben ccm $\frac{n}{10}NH_3$	Eingesaugt NH_3 in ccm $\frac{n}{10}$	Gefunden ccm $\frac{n}{10}$ NH_3 in den H_2SO_4-Nachlagen für die Espiration	Spülluft	Es wurde absortiert NH_3 in ccm $\frac{n}{10}$	in mg	in %	Es werden in 1' gemacht Züge
100	98,0	2,0	0,7	0	1,3	2,2	65,0	6
100	93,5	6,5	1,3	0	5,2	8,8	80,0	4
100	89,0	11,0	1,4	0	9,6	16,3	87,0	4
100	88,5	11,5	1,4	0	10,1	17,2	87,8	4
70,8	60,4	10,4	1,6	0	8,8	15,0	84,6	4
100	87,0	13,0	2,7	0	10,3	17,6	79,0	6

Also im Durchschnitt — unter Weglassung des ersten wohl unsicheren Versuches — 79—87,8%. Grofse Sorgfalt wurde auch

Tabelle I. NH_3 Rauch-Versuche.
Alle Angaben sind in ccm $^1/_{10}$ Normallösung gemacht.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Nr	Zeitdauer	NH_3 Vorlage faßte Norm. NH_3	Titer der NH_3 Lösung vor dem Versuche ccm	Titer der NH_3 Lösung nach dem Versuche ccm	Differenz = NH_3 Gehalt der eingesaugten Luft ccm	Titer der H_2SO_4 vor d. Versuche ccm	Titer der H_2SO_4 nach d. Versuche ccm	Differenz von 6 u. 7 = NH_3 Gehalt der ausgeatmeten Luft ccm	Also im Körper geblieben ccm	Im Speichel geblieben ccm	Also absorbiert ccm
1	20 Min.	100 ccm ca. $^1/_{10}$	99	93	6	10,6	10	0,6	5,4		
2	»		99	93	6	10,6	10	0,6	5,4		
3			99	94	5	10,6	10	0,6	4,4		
4		100 ccm ca. $^3/_{10}$	311	297	14	10,6	7,3	3,3	10,7		
5			311	297	14	10,6	8,1	2,5	11,5		
6			311	296	15	10,6	8,2	2,4	12,6		
7			302	287	15	10,6	9,2	1,4	13,6	8,16	5,44

Tabelle II. BH_3 Rauch-Versuche.
Alle Angaben in mgr und %.

	1	2	3		4		5		6		7	
Nr	Zeitdauer	In der Vorlage waren	Es ging in den Mund		Es wurde ausgeblasen		Es blieb im Körper		Von dem im Körper gebliebenen befand sich noch im Speichel		Von dem im Körper gebliebenen wurde absorbiert, verschluckt etc.	
		mgr	absolut mgr	% der Vorlage	absolut mgr	% des in den Mund gegangenen	absolut mgr	% des in den Mund gegangenen NH_3	absolut mgr	%	absolut mgr	%
1	20 Min.	168,3 NH_2	10,2	6	0,96	9 1/2	9,2	90 1/2				
2			10,2	6	0,96	9 1/2	9,2	90 1/2				
3	»	»	8,5	5	0,96	11 1/8	7,5	88 2/3				
4		528,7 NH_3	23,8	4 1/2	5,2	21 1/2	18,6	78 1/2				
5	»		23,8	4 1/2	4,0	16 1/2	19,8	83 1/2				
6		»	25,5	4 3/4	3,8	15	21,7	85				
7	»	513,4 »	25,8	5	2,2	9 1/2	22,3	90 1/2	13,872	63	8,3928	37
	Im Mittel			5		13 1/4		86 1/2				

hier auf das Untersuchen der Spülluft gelegt. Die betreffenden Vorlagen gaben mit Nesslerschem Reagens stets schwache Gelbfärbung, die blos im 6ten Versuch etwas dunkler war. Titrimetrisch konnte kein NH_3 in den zwischengeschalteten Atemzügen bestimmt werden.

a) Ammoniakeinatmungsversuche durch den Mund nach der Waschflaschenmethode.

Nachdem gezeigt war, dafs schon die Mundhöhle eine sehr bedeutende Absorptionskraft für Ammoniakgas besitzt, war weiter zu untersuchen, ob sich diese Ammoniakabsorption noch weiter steigern würde, wenn man das Ammoniakgas, statt es nur in den Mund einzusaugen, durch den Mund in die Lunge einatmete.

Herr Willke hat eine grofse Anzahl solcher Versuche ausgeführt, die recht übereinstimmende Resultate gegeben haben. Selbstverständlich war es nicht möglich, mit dem Ammoniakgehalt der eingeatmeten Luft über eine gewisse Grenze zu gehen; den Versuchen setzte ein ätzendes Gefühl in der Gegend des Kehlkopfs ein Ziel[1]).

Die Versuchsanordnung war sehr ähnlich wie bei den Rauchversuchen, nur wurde diesmal 6 mal in der Minute ein Atemzug von ungefähr 3—500 cc mit dem Munde durch die Ammoniakvorlage ausgeführt und dann durch die Schwefelsäure ausgeatmet. Hierauf wurden genau wie bei den Rauchversuchen zwei Atemzüge mit reiner Zimmerluft ausgeführt und ein Teil der Exspirationsluft dieser Atemzüge durch die Nase durch eine besondere Vorlage mit Nesslerschem Reagens geblasen. Das Reagens zeigte dabei keine nennenswerte Verfärbung.

Wie Tabelle III und IV zeigen, war die Absorption bei dieser Anordnung noch etwas vollständiger d. h. obwohl absolut und

---

1) Die Versuchsdauer bei den Atemversuchen wurde, um sicher keine Gesundheitsstörungen herbeizuführen, nicht über 10 Minuten ausgedehnt. Irgendwelche andere Unannehmlichkeiten als das besprochene ätzende Gefühl im Hals war mit den Versuchen nicht verbunden — also drang wohl kaum Ammoniak über den Kehlkopf hinaus.

Tabelle III.

NH_3-Einatmungsversuche durch den Mund.

Alle Angaben sind in ccm $^1/_{10}$ Normallösung gemacht.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Zeitdauer	In der Vorlage sind	Titer der NH_3 Lösung vor dem Versuche	Titer der NH_3 Lösung nach dem Versuche	Differenz v. 3 u. 4 = NH_3 Gehalt der eingeatmet. Luft	Titer der H_2SO_4 vor d. Versuche	Titer der H_2SO_4 nach d. Versuche	Differenz v. 6 u. 7 = NH_3 Gehalt der ausgeatmet. Luft	Also im Körper geblieben	Im Speichel gefunden	Also absorbiert
	Normal. NH_3	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
5 Min.	100 ccm $^1/_{10}$	99	94	5	10,6	10,6	—	5		
10 Min.	» »	99	89,5	9,5	10,6	10	0,6	8,9		
» »	» »	99	87,5	11,5	10,6	9,3	1,3	10,2		
» »	» »	99	88	11	10,6	9,9	0,7	10,3		
»	»	99	88,5	10,5	10,6	9,8	0,8	9,7		
	» »	99	87,5	11,5	10,6	9,4	1,2	10,3		
	» $^5/_{10}$	311	292	19	10,6	8,35	2,25	16,75		
» »	» »	311	292	19	10,6	8,5	2,1	16,9	12,45	4,45
» »	» »	311	292	19	10,6	8,7	17,1	1,9	12,45	4,65
» »	» »	302	283	19	10,6	8,3	16,7	2,3	12,34	4,36

Tabelle IV.

NH_3-Einatmungsversuche durch den Mund.

Alle Angaben in mg und % ausgedrückt.

1	2	3		4		5		6		7	
Zeitdauer	In der Vorlage waren	Es ging in den Mund		Es wurde ausgeblasen		Es blieb im Körper		Von dem im Körper gebliebenen befand sich noch im Speichel		Von dem im Körper gebliebenen wurde absorbiert resp. verschluckt	
	NH_3 mgr	absolut mgr	% der Vorlage	absolut mgr	% des in den Mund gegangenen	absolut mgr	% des in den Mund gegangenen	absolut mgr	%	absolut mgr	%
5 Min.	168,3	8,5	5	—	—	8,5	100				
10 Min.	168,3	16,15	9	1,0	6	15,2	94				
» »	168,3	19,55	11	2,1	10	17,5	89				
» »	168,3	18,5	11	1,1	6	17,4	94				
» »	168,3	17,85	10	1,3	7	16,6	92				
» »	168,3	20,4	12	1,9	9	18,5	90				
» »	528,7	32,3	6	3,6	11	28,7	88				
» »	528,7	32,3	6	3,4	10	28,9	89	19,8	68	9,1	31
»	528,7	32,3	6	3,1	9	29,2	90	19,8	68	9,4	32
» »	513,4	32,3	6	3,7	11	28,6	88	20,8	73	7,8	27
	Im Mittel		8		8		91		70		30

relativ gröſsere Mengen eingeatmet wurden (15—29 mg in 10 Min. statt bei den Rauchversuchen 9—22 mg in 20 Min.) blieben im Mittel 91% gegen 86,5% im Körper zurück, von dieser Menge lassen sich rund 70% im Speichel wiederfinden. Auch die übrigen 30 Prozent sind sicher am Schluſs des Versuchs noch nicht vollständig resorbiert, sondern z. T. auch nur von den die Schleimhäute bedeckenden Flüssigkeiten absorbiert. An der endlichen Resorption der ganzen absorbierten Mengen ist aber natürlich nicht zu zweifeln. Auch bei diesen Versuchen macht es den Eindruck, als ob die Gasabsorption um so vollständiger wäre je kürzer die Versuchsdauer. In dem einen nur 5 Minuten dauernden Versuch erschien n i c h t s in der Exspirationsluft und es ist möglich, daſs wenn die Atemversuche 20 Minuten hätten fortgesetzt werden können, daſs dann auch nicht mehr 92%, sondern auch etwas weniger absorbiert worden wären.

Daſs der Unterschied in der Absorption zwischen Atemversuchen und Rauchversuchen nicht gröſser war, darf man aber nicht so auslegen, daſs die Lunge nicht fähig sei, Ammoniak zu absorbieren sondern einstweilen nur so, daſs sie wohl kein oder nur wenig Ammoniak absorbiert habe, da die Mundhöhle und die Rachenschleimhaut fast alles wegnahm.

b) Einatmungsversuche durch die Nase.

Es war zu erwarten, daſs die prozentische Absorption von Ammoniak sich noch steigern werde, wenn die Inspiration der ammoniakhaltigen Luftmischung durch die Nase stattfände. Ich veranlaſste daher Herrn W i l l k e eine Versuchsreihe auszuführen, bei der 6 mal in der Minute durch die Nase durch eine Ammoniakvorlage eingeatmet und durch den Mund durch eine Schwefelsäurevorlage ausgeatmet wurde. Zwischen jedem Atemzug Ammoniakluft wurden 2 gewöhnliche nasale Atemzüge ausgeführt und die Exspirationsluft derselben durch N e s s l e r sches Reagens geblasen, ohne daſs sich nennenswerte Ammoniakmengen darin nachweisen lieſsen.

Tabelle V.

NH_3-Einatmungsversuche durch die Nase.

Alle Angaben sind in $^1/_{10}$ Normallösung gemacht.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Zeitdauer	In der Vorlage sind Normal. NH_3	Titer der NH_3 Lösung vor dem Versuche ccm	Titer der NH_3 Lösung nach dem Versuche ccm	Differenz v. 3 u. 4 = NH_3 Gehalt der eingeatmet. Luft ccm	Titer der H_2SO_4 vor d. Versuche ccm	Titer der H_2SO_4 nach d. Versuche ccm	Differenz v. 6 u. 7 = NH_3 Gehalt der ausgeatmet Luft ccm	Also im Körper geblieben ccm	Im Speichel gefunden ccm	Also absorbiert ccm
20 Mn.	100 ccm $^1/_{10}$	102	92	10	10,6	10,6	—	10	—	10
» »	» »	102	91,5	10,5	10,6	10,6	—	10,5	—	10,5
» »	» [illegible]/10	295	278	17	10,6	10,6	—	17	—	17
» »	» »	295	276	19	10,6	10,6	—	19	—	19
» »	» ca. $^1/_{10}$	101	91	10	10,2	10,2	—	10	0,15	9,85
» »	» »	101	90	11	10,2	10,2	—	11	0,2	10,8
» »	» ca $^3/_{10}$	294	285	19	10,2	10,2	—	19	1,3	17,7
» »	» »	294	284	20	10,2	10,2	—	20	1,2	18,8

Tabelle VI.

NH_3-Einatmungsversuche durch die Nase.

Alle Angaben sind in mg und % gemacht

1	2	3		4		5		6			
Zeitdauer	In der Vorlage sind	Es ging in die Nase von dem Ammoniakgehalt der Vorlage		Es wurde ausgehalsen		Es blieb im Körper		Von dem im Körper gebliebenen			
								war im Speichel		wurde von der Nase absorbiert	
	NH_3 mgr	absolut mgr	%	absolut mgr	%	absolut mgr	%	absolut mgr	%	absolut mgr	%
20 Min.	173,4	17	9 4/5	—	—	17	100	—	—	—	—
» »	173,4	17,85	10 3/10	—	—	17,85	100	—	—	—	—
» »	501,5	28,9	5 4/5	—	—	28,9	100	—	—	—	—
»	501,5	32,3	6 1/2	—	—	32,3	100	—	—	—	—
» »	171,7	17	10	—	—	17	100	0,26	1 1/2	14,4	98 1/2
» »	171,7	18,7	11	—	—	18,7	100	0,34	1 3/4	18,4	98 1/4
» »	499,9	32,3	6 1/2	—	—	32,3	100	2,2	6 3/4	30,1	93 1/4
» »	499,8	34	7	—	—	34	100	2,0	6	32,0	94
	Im Mittel		8 2/5						4		96

Tabelle V und VI zeigen, dafs bei dieser Versuchsanordnung 20 Minuten lang verdünnte ammoniakhaltige Luft geatmet werden konnte, ohne dafs eine titrierbare Spur davon ausgeschieden wurde. Der Speichel nahm dabei nur $1\frac{1}{2}$—6% des verschwundenen Ammoniaks auf, offenbar wurde das Ammoniak von der Nasenschleimhaut gebunden.

c) Versuche über Ammoniakabsorption durch die Lunge allein am Tier.

Es war nun die Aufgabe, eine Versuchsanordnung zu finden, welche einwandfrei feststellte, ob die Lunge, wenn man ihr nur Ammoniak zuführe, Ammoniak aufnehme.

Die von mir gewählte Versuchsanordnung, welche ohne weiteres zum Ziel führte, war die, das Tier durch Müllersche Ventile (S. 59) atmen zu lassen. In unseren Versuchen wurde die Inspirationsflasche mit titrierter Ammoniaklösung, die Exspirationsflasche mit titrierter Schwefelsäure gefüllt. Das Tier (es wurden zwei Katzen und ein Kaninchen benützt) wurde mit Chloroform narkotisiert, tracheotomiert, eine Glaskanüle möglichst tief in die Trachea eingeschoben, festgebunden und mit den Müllerschen Flaschen verbunden. Die Versuche gelangen tadellos, nur war im ersten Versuch zu wenig Säure vorgelegt. Es erwies sich die vorgelegte Säure vollständig gesättigt nach dem Versuch, ein Resultat, was natürlich eine genaue Bestimmung des ausgeschiedenen Ammoniaks unmöglich machte. Die gefundene Zahl stimmt aber so gut mit den Resultaten des zweiten und dritten Versuches, dafs ich von einer Vermehrung der Versuche glaubte absehen zu können.

Über die 3 Tierversuche ist im einzelnen noch folgendes zu sagen:

Versuch 1. Katze.

Atmung während des 15 Minuten dauernden Versuchs sehr gleichmäfsig, die mehrfache Zählung ergibt stets 18 Atemzüge pro Minute. Bei der Sektion

1) Die Narkose dauerte zweimal während des ganzen Versuches, einmal während des gröfseren Teiles des Versuches an.

Tabelle VII. NH_3-Einatmungsversuche an tracheotomierten Tieren. Alle Angaben sind in $^1/_{10}$ Normallösung gemacht.

Nr.	1 Zeitdauer	2 In der Vorlage sind Normal. NH_3	3 Titer der NH_3 Lösung vor dem Versuche ccm	4 Titer der NH_3 Lösung nach dem Versuche ccm	5 Differenz von 3 u. 4 = Gehalt der eingeatmeten Luft ccm	6 Titer der H_2SO_4 vor dem Versuche Normal. H_2SO_4	7 Titer der H_2SO_4 nach d. Versuche ccm	8 Differenz v 6 u. 7 = NH_3 Gehalt der ausgeatmet. Luft ccm	9 Also absorbiert ccm
1 (Katze)	15 Min.	100 ccm ca. $^2/_{10}$	298	27,3	25	11 ccm ca. $^1/_{10}$	—	11	14
2 (Katze)	10 „	„ „	296	272,5	23,5	33 „ „	23,9	9,1	14,4
3 (Kaninch.)	„ „	„ „	329	311	18	19,6 „ „	10,8	8,8	9,2

Tabelle VIII. NH_3-Einatmungsversuche an tracheotomierten Tieren. Alle Angaben in mg und in % ausgedrückt.

Nr.	1 Zeitdauer	2 In der Vorlage sind mgr	3 Es ging in die Lunge aus der Ammoniakvorlage absolut mgr	 % der Vorlage	4 Es wurde ausgeatmet absolut mgr	 % das in die Lunge gegang.	5 Es wurde absorbiert absolut mgr	 %
1 (Katze)	15 Min.	506,6	42,5	8 $^1/_2$	wenigst. 18,7	wenigst. 44	höchst. 23,8	höchst. 56
2 (Katze)	10 „	503,2	40	8	15,5	39	24,5	61
3 (Kaninch.)	„ „	559,3	30,6	5 $^1/_2$	15	48 $^1/_2$	15,6	51 $^1/_2$
Im Mittel				7 $^1/_3$		44		56

zeigt sich, dafs die Glastrachealkanüle schon 5 cm über der Bifurkation endigte. In der Trachea blutiger Schleim, der sich in die Bronchien fortsetzt. Die Lunge kollabiert nicht sehr gut, liefert aber beim Zusammendrücken nur wenig schaumige Flüssigkeit. Beim Aufschneiden der feineren Bronchien finden sich zahlreiche z. T. ziemlich derbe Schleimpfröpfe, welche offenbar das Kollabieren der Lunge stören. — Die mikroskopische Untersuchung zeigt im Schleim massenhafte abgestofsene Epithelien, die z. T. noch prachtvolle Flimmerbewegung ausführen. daneben sind rote Blutkörperchen und Körnchenkugeln mit grünlich glänzenden Körnchen. Es hat also die 15 Minuten dauernde Ammoniakeinatmung eine schwere Schädigung des Bronchialepithels zu stande gebracht.

Versuch 2. Katze.

Atmung während des 10 Minuten dauernden Versuches recht gleichmäfsig 24 per Minute. Bei der Sektion zeigt sich, dafs die Kanüle bis 4,5 cm über die Bifurkation reicht. In der Mitte der Trachea ist eine etwa linsengrofse Blutung in die Submucosa, an der Bifurkation liegt ein blutig tingierter derber Schleimpfropf. Die Bronchien und Bronchiolen ohne Schleimpfröpfe. Das Trachealepithel ist im wesentlichen erhalten, es lassen sich nur wenige abgestofsene Flimmerzellen nachweisen.

Versuch 3. Kaninchen.

Atmung 132 per Minute ziemlich gleichmäfsig, die Kanüle reicht bis an die Bifurkation. Der Sektionsbefund ging verloren.

Es absorbiert die Lunge also auch bei möglichst vollständigem Ausschlufs der Trachea erhebliche Mengen des eingeatmeten Ammoniaks — c. 56%. Da aber bei buccaler oder nasaler Atmung 85 resp. 95% verschwinden, ist es nicht unmöglich, dafs die Alveolen selbst in der Tat nichts absorbieren und dafs die ganze Ammoniakaufnahme in der Lunge den Bronchien zufällt, die man ja nicht ausschliefsen kann.

Vom praktischen Standpunkt aus findet aber auch bei Ausschlufs der oberen Respirationswege erhebliche Ammoniakaufnahme durch die Lunge statt.

Für fabrikhygienische Betrachtungen darf man nach diesen Ergebnissen wohl annehmen, dafs, je nach der Konzentration und Dauer der Einwirkung bei kürzerer Exposition auf dem Respi-

rationsweg 100—75% des eingeatmeten Ammoniaks absorbiert werden. Versuche bei stundenlanger Inspiration sollen noch ausgeführt werden, sie werden sehr erschwert durch die notwendige lange Narkose.

3. Untersuchungen über Salzsäureabsorption.

Bisher ist noch keine Säure auf ihre quantitative Absorption untersucht. Wir haben Tier- und Menschenversuche ausgeführt.

Die Tierversuche sind mit Müllerschen Ventilen angestellt und zwar begnügten wir uns nicht die Absorption des Gases durch den unteren Teil des Respirationsapparats mittelst einer Trachealkanüle zu untersuchen, sondern wir wünschten auch die Absorption bei nasaler Inspiration kennen zu lernen. Nach mancher Mühe kamen wir schliefslich darauf, dem narkotisierten Tier zwei kleine Bambusröhrchen, über die ein Gummischlauch gezogen war, mit einigen Stichen in die Nasenlöcher einzunähen, den Mund mit drei Nähten zu schliefsen und nun mit Heftpflaster, Watte und Kollodium eine vollständige Abdichtung der Respirationsöffnungen bis auf die doppelte Nasenkanüle zu erzeugen. Wie wir uns mehrfach durch das Versenken des ganzen Tieres unter Wasser überzeugten, schlofs dieser nach einiger Übung nicht allzuschwierig herzustellende Verband in tadelloser Weise. Hatte das Tier eine Weile durch die Nasenkanüle geatmet, so unterbrachen wir den Versuch, bestimmten die Abnahme des Gehalts der vorgelegten Salzsäure, den Salzsäuregehalt der Exspirationsvorlage und der kleinen Flüssigkeitsmengen, welche sich in der Rohrleitung kondensiert hatten, und schlossen mehrfach, da die Narkose gut fortdauerte, gleich einen zweiten Versuch mit Tracheotomie an. Sofort nach dem Atmungsversuch mit Tracheotomie, manchmal aber auch schon nach dem ersten Versuch mit Nasenatmung wurde das Tier durch Medullastich getötet und eine sorgfältige Sektion vorgenommen, wobei natürlich die in der Kanüle kondensierten feinsten Tröpfchen von Salzsäure nicht als absorbiert, sondern als ausgeatmet gerechnet werden müssen.

Die Trachea wurde stets doppelt unterbunden herausgenommen und ihr Inhalt genau betrachtet und mit Lackmuspapier geprüft.

Da die Vorlage eine kleine Menge starker Salzsäure enthalten mufste, um genügend Salzsäuredämpfe abzugeben, so war genauestes Abmessen der vorgelegten 2, 3 oder 4 cc Salzsäure notwendig, die Titerabnahme der Vorlage wurde alkalimetrisch bestimmt. Zur Ermittelung der kleinen Salzsäuremengen, die in die Alkalinachlage übergingen, erwies sich die Volhardsche Methode am besten geeignet. In blinden Versuchen verschwand die gleiche Säuremenge in der Vorlage, wie wir sie nachher in der Nachlage wiederfanden.

Für die ausführlichen Protokolle der einzelnen Versuche kann ich auf die Dissertation von Yamada verweisen, hier sollen blofs die Tabellen und Betrachtungen eine Stelle finden.

Aus den beiden Tabellen IX und X lassen sich folgende Resultate ableiten:

1. Die Gröfse der Absorption von Salzsäure durch die Nase und durch die Trachea wurde nicht verschieden gefunden. Es wird in beiden Fällen 60 bis höchstens 75% des eingeatmeten Salzsäuregases absorbiert.

2. Es ist auffallenderweise kein Unterschied in der Vollständigkeit der Absorption zu konstatieren bei stärkerer und schwächerer Konzentration der Salzsäure in der Einatmungsluft, ebenso wenig bei längerer und kürzerer Versuchsdauer.

3. Die pro Minute und Kilo absorbierte Salzsäuremenge ist, wie aus Stab 2 hervorgeht, der Konzentration der Inspirationsluft ungefähr proportional.

4. Die gröfste Säuremenge, die in einer Stunde absorbiert wurde, betrug 252 mg Salzsäure, was nach den Versuchen von Walter absolut nicht ausreicht, um bei einem Tier von 2,7 kg eine wirkliche Säurevergiftung hervorzubringen.

5. Bei Nasenatmung war selbst bei sehr beträchtlichen und für den Menschen unerträglich ätzenden Dosen die saure Reak-

Tabelle IX.

Tierversuche mit HCl. Analytischer Teil.

	durch die Nase			durch die Trachea			durch die Trachea			
	II	V	VII	III	IV	VI	VIII	IX	X	XI
			Vorlage erwärmt			Vorlage erwärmt				
Zimmer-Temperatur	13°	13°	60°	13°	13°	60°	13°	13°	13°	13°
Zeitdauer . . . Min.	60	60	57	35	60	60	15	60	15	60
Tiergewicht . . . g	1920	2270	2500	2590	2500	2700	2050	2100	2650	2700
Atemfrequenz	41	31	25	35	30	48	35	42	34	35
Atem-Volum pro 1 Minute	300	290	275	520	330	480	240	500	500	500
Volum eines Atemzuges . ccm	7,3	8,3	11	14	11	10	6	11,9	14,7	14,2
Gesamtes Atem-Volum . Liter	18	17,4	14,7	18,2	19,8	28,8	3,6	30	7,5	30
Die Vorlage enthielt v. Versuch mg	1166,4	1166,4	1166,4	1166,4	1166,4	1166,4	291,6	291,6	227,5	227,5
Vorlage nach dem Versuch mg	1112,4	1108,8	903,6	1119,6	1105,2	831,6	284,4	248,4	224,6	217,1
Eingeatmete Menge . mg	54	57,6	262,8	46,8	61,2	334,8	7,2	43,2	2,9	10,4
Nachlage enthielt . . . mg	22	23	82,1	17,1	22,7	82,1	2,52	14,04	0,76	3,96
Absorbierte Menge, total . . .	32	34,6	180,7	29,7	38,5	252,7	4,68	29,16	2,14	6,44
Inspirationsluft im Liter . mg	3,0	3,3	17,8	2,57	3,1	11,6	2,0	1,44	0,38	0,34
Exspirationsluft im Liter . mg	1,22	1,36	5,5	0,94	1,1	2,85	0,7	0,468	0,1	0,13
Absorbierte Menge pro Liter	1,78	1,94	12,3	1,63	2,0	8,75	1,3	0,972	0,28	0,21
" " pro Min.	0,0296	0,0323	0,21	0,046	0,033	0,146	0,086	0,0162	0,018	0,035
" pro Kilo	0,0155	0,0145	0,084	0,017	0,013	0,054	0,043	0,0081	0,007	0,0013
" " % der Inspirationsluft	59	59	69	63	64	75	65	60,7	73	61

Tabelle X. Tierversuche

	Versuchs-Nummer	Tiergewicht g	Zeitdauer Min.	Verhalten und Schicksal des Tieres	Gehalt der Inspirationsluft, mg pro 1 Liter	Absorptions-Menge pro 1 Liter
Tracheal-Atmung	XI	2700,0	60	Am Versuchsende wohl, wird getötet	0,34	0,21
»	X	2650,0	15	»	0,38	0,28
»	XI	2100,0	60	»	1,44	0,972
»	VIII	2050,0	15	Am Versuchsende ziemlich wohl, wird getötet	2,0	1,3
»	III	2590,0	35	»	2,57	1,63
Nasen-Atmung	II	1920,0	60	»	3,0	1,78
»	V	2270,0	60	»	3,3	1,94
Tracheal-Atmung	IV	2500,0	60	Am Ende des Versuchs scheint Schwierigkeit des Atmens zu bestehen, wird getötet.	3,1	2,0
»	VI	2700,0	60	Am Ende des Versuchs macht das Atmen Schwierigkeit, Zuckungen, wird getötet. Während d. Versuchs wird durch Tieflagern des Kopfes jedes Einfliefsen von Kondenswasser in die Trachea vermieden	11,6	8,75
Nasen-Atmung	VII	2500,0	57	Stirbt am Ende des Versuchs	17,8	12,3

mit HCl. Sektionsresultate.

Nase	Trachea	Bronchien	Lunge
—	Keine makroskopische Veränderung	Keine Veränderung	Keine Veränderung
—	»	»	»
—	Leichte Hyperämie. Reaktion ist nicht sauer	»	Etwas Randemphysem
—	»	»	»
—	Starke Hyperämie und braunschwarze Anätzung mit saurer Reaktion! Es sieht fast so aus, als ob aus der Kanüle einige Tropfen saures Kondenswasser in die Trachea heruntergeflossen wären! Unterster Teil der Trachea u. Lunge alkalisch	Die Gefäfse etwas injiziert, Reaktion nicht sauer	Einige kleine Ecchymosen nirgends saure Reaktion
Naseneingang zeigt saure Reaktion, aber die Nasenhöhle reagiert schon in der Tiefe von ½ cm ganz deutlich alkalisch wie der Nasenrachenraum	Die Gefäfse sind etwas injiziert, die Schleimhaut ist unverletzt, die Reaktion nicht sauer	»	»
Nur im Anfangsteil saure Reaktion, die tiefen Teile derselben sind alkalisch	Kehlkopf ist blafs mit etwas schleimigem schwach alkalischem Inhalt. Trachea oben hyperämisch unten normal	»	Einige kleine Blutungen etwas Emphysem
—	Starke Hyperämie, an der Mündung der Kanüle ist eine braunschwarze Färbung etwa 1 cm weit vorhanden, es hat wohl ein Einfliefsen aus der Kanüle stattgefunden. Unterer Teil der Trachea alkalisch und nur hyperämisch		Einige kleine Ecchymosen, nirgends saure Reaktion
—	Schleimhaut sehr trocken, von schwarzer Farbe, deutliche Defekte des Epithels sind an einzelnen Stellen zu sehen. Reaktion sauer!	Defekte des Epithels sind an einzelnen Stellen. Saure Reaktion	»
Schwärzliche Verfärbung der Schleimhaut, sie ist leicht ablösbar u. zeigt saure Reaktion bis in ihre hinter. Teile	Kehlkopf nicht verändert, keine saure Reaktion. Trachea zeigt starke Gefäfsinjektion und neutrale Reaktion	Gefäfse etwas injiziert, Reaktion alkalisch	Einzelne kleine Hämorrhagien

tion auf den ersten Anfang der Nasenhöhlen (Naseneingang) beschränkt. Die tieferen Teile der Nase sind auch bei 3 und 3,3 mg pro Liter alkalisch. Wir lassen unentschieden, inwieweit alkalische Sekrete oder das Eiweifs selbst an der Absättigung der Säure beteiligt sind.

6. Bei Nasenatmung wurde selbst bei den stärksten Dosen bis zu 12 mg Salzsäure im Liter in der Trachea keine saure Reaktion gefunden. Allerdings war die Nase bis in ihre hinteren Teile sauer und die Nasenschleimhaut leicht ablösbar, dagegen Kehlkopf und Trachealschleimhaut nicht wesentlich geschädigt.

7. Bei trachealer Einatmung ist bis zu etwa 2 mg im Liter keine makroskopisch auffallende Schädigung des Epithels beobachtet worden und keine saure Reaktion der Trachealschleimhaut, wenn wir von lokalen Störungen absehen, die durch Einfliefsen von saurem Kondenswasser aus der Trachealkanüle entstanden sind. Bei einer Dosis von 8 mg ab im Liter ist dagegen die Schleimhaut der Trachea stark angeätzt und reagiert bis in die Bronchien hinein sauer.

8. Schwerere Lungenveränderungen wurden in keinem Versuch, solange das Tier das Gas einatmet, gesehen, nur einige kleine Ecchymosen. Wir haben es vermieden, die Tiere nach Versuchsabschlufs noch am Leben zu lassen und die später eintretenden Störungen zu untersuchen. Solche Beobachtungen sind reichlich mitgeteilt bei K. B. Lehmann, Archiv für Hygiene, V, Seite 50 und 110.

Versuche am Menschen mit Salzsäure wollten nach der zuerst versuchten Waschflaschenmethode nicht gelingen, die geringen Salzsäuremengen, die man dem Menschen ohne Störung zuführen durfte, durch Titerabnahme einer Salzsäurevorlage zu bestimmen, erschien nach einigen Vorversuchen zu ungenau. Wir wählten daher meine alte »Flaschenmethode«, die auch ohne Schwierigkeit die Frage erledigen liefs. Nur erwies es sich als unmöglich, die geringen Salzsäuremengen, die in 4—5 Liter Inspirations- oder gar Exspirationsluft vorhanden sind zu titrieren, es blieb nach vielen

Versuchen nichts anderes übrig als kolorimetrisch zu verfahren. Die Flaschen wurden mit 2 mal 10 cc chlorfreien Wassers ausgespühlt und diese Flüssigkeit mit Silbernitrat und Salpetersäure ebenso versetzt wie Kontrollösungen von bekanntem Chlorgehalt. Die Versuche, die Herr Dr. Yamada an sich anstellte, sind folgende:

Die Versuchskammer war stets die gleiche 3,4 m lang, 3,35 m breit und 2,95 m hoch; sie hatte somit rund 18,09 qm Grundfläche und 53 cbm Inhalt.

I. Versuch.

Im ersten Versuch wurden 60 ccm starke Salzsäure abgedampft; der Versuch dauerte 20 Minuten.

Flaschen-Inhalt für Inspirationsluft 4,8 Liter.

Nach Versuch gefundene HCl mit Silberlösung in der ganzen Flasche 1,4 mg oder pro Liter 0,29 mg.

Flaschen-Inhalt für Exspirationsluft 4,7 Liter.

Nach Versuch gefundene HCl mit Silberlösung in der ganzen Flasche 0,05 mg oder pro Liter 0,01 mg.

II. Versuch.

Etwa 80 ccm HCl abgedampft während 20 Minuten.

Flaschen-Inhalt für Inspirationsluft 4,7 Liter.

Nach Versuch gefundene HCl mit Silberlösung in der ganzen Flasche 1,4 mg oder pro Liter 0,298 mg.

Flaschen-Inhalt für Exspirationsluft 4,8 Liter.

Nach Versuch gefundene HCl mit Silberlösung in der ganzen Flasche 0,06 mg oder pro Liter 0,0125 mg.

III. Versuch.

Etwa 70 ccm HCl abgedampft, Dr. Yamada konnte es nur 5 Minuten in dem Raum aushalten.

Flaschen-Inhalt für Inspirationsluft 4,8 Liter.

Nach Versuch gefundene HCl mit Silberlösung in der ganzen Flasche 1,8 mg oder pro Liter 0,375 mg.

Flaschen-Inhalt für Exspirationsluft 4,7 Liter.

Nach Versuch gefundene HCl mit Silberlösung in der ganzen Flasche 1,8 mg oder pro Liter 0,35 mg.

Flaschen-Inhalt für Exspirationsluft 4,7 Liter.

Nach Versuch gefundene HCl mit Silberlösung in der ganzen Flasche 0,08 mg oder pro Liter 0,0383 mg.

Obige Resultate liefern folgende Tabelle:

Pro Liter	I	II	III
Inspirationsluft	0,29 mg	0,3 mg	0,37 mg
Exspirationsluft	0,0125	0,0125	0,0383
Absorbiert	96%	96%	89%

Aus den Versuchen folgt, dafs bei der Zufuhr eben noch erträglicher sehr kleiner Salzsäuredosen eine fast vollständige Absorption der Menschen stattfindet, da nur 4—11% derselben ausgeschieden werden.

Diese Resultate stimmen mit unserer Erwartung, dafs die Absorption am Menschen bei den kleinen Dosen noch vollständiger sein würde, als am Tier bei den grofsen Dosen.

Dagegen waren wir überrascht, zu sehen, dafs in den Menschenversuchen die Absorption der kleinen Dosen noch erheblich vollständiger ist, als wie der kleinen Dosen beim Tier, wofür ich keinen sicheren Grund weifs.

In Versuch Nr. 10 und 11 sind vom Kaninchen, trotzdem die Inspirationsluft nur 0,38 und 0,34 mg enthielt, doch nur 73—61% absorbiert worden. Ob dies an den Methoden liegt, oder ob der Mensch bei seinem langsamen Atmen und der gröfseren Dimension seiner Nase günstigere Absorptionsresultate erzielt als das Kaninchen, wäre weiter zu untersuchen.

Gegen die Flaschenmethode könnte man den Verdacht erheben, dafs möglicherweise die Resultate sowohl der Zimmerluft, als der Exspirationsluft zu hoch sein könnten, weil an den Glaswandungen trotz der Erwärmung durch das umgebende Wasser eine Kondensation geringer Salzsäuremengen stattfinden könnte — wenn dadurch Fehler entstehen, sind sie sehr klein.

Wahrscheinlicher ist mir, dafs die Absorptionsresultate bei Anwendung der Müllerschen Ventile zu niedrig erscheinen, indem es die Einrichtung mit sich bringt, dafs etwas Inspirationsluft selbst bei Anwendung der Nasenkanülen sich der Exspirationsluft beimischt, ohne die Respirationsorgane passiert zu haben.

4. Untersuchungen über die Absorption von schwefliger Säure.

Die Tierversuche mit der bisher noch nie auf ihre Absorbierbarkeit geprüften schwefligen Säure wurden genau so angestellt, wie die mit Salzsäure: Mit Müllerschen Ventilen und Nasen- oder Trachealkanülen. Als Vorlage diente ein Gefäfs mit frisch durch Destillation bereiteter wässriger schwefliger Säure, die Absorption fand in 2 Gefäfsen, die mit Jod, seltener mit Bromlösungen beschickt waren, statt. Die Bestimmung der aus der Vorlage verschwundenen und der in den Nachlagen aufgefangenen SO_2 fand nur im ersten Versuche auf titrimetrischem (jodometrischem) Wege statt. In den späteren Versuchen wurde prinzipiell die schweflige Säure in Vor- und Nachlage nach Oxydation mit Brom oder Jod gewichtsanalytisch kunstgerecht als Schwefelsäure bestimmt. Es geschah dies, um davon unabhängig zu sein, dafs etwa in den Vor- oder Nachlagen ein Teil der schwefligen Säure in Schwefelsäure übergegangen sein sollte. Die Vorlagen wurden in den meisten Versuchen mehrmals gewechselt, um einen möglichst gleichmäfsigen Gehalt an schwefliger Säure zu erzielen, für die Untersuchung wurden sie aber vereinigt.

Ausführliche Versuchsprotokolle bietet die Dissertation des Herrn Yamada, hier genügt die Wiedergabe der etwas erweiterten Übersichts-Tabellen (S. 83—85).

Aus den Tabellen folgt:

1. Dafs die schweflige Säure vom Tier wesentlich schwächer absorbiert wird als die Salzsäure. Es wurden nur etwa 35—58% absorbiert.

2. Ein Unterschied zwischen den Absorptionen durch die Nase und durch die Trachea wurde nicht konstatiert.

3. Dagegen wäre in diesen Versuchen im Gegensatz zu den Salzsäureversuchen eher davon zu sprechen, dafs bei geringer

Konzentration der Säure in der Inspirationsluft die Absorption eine etwas vollständigere ist — was man ja erwarten sollte.

Bei den beiden schwächsten Konzentrationen von 1,3 und 1,09 mg pro Liter wurden 57,6 und 58,6% absorbiert; allerdings findet sich unter den höheren Konzentrationen auch einmal eine Absorption von 55%; im übrigen liegen aber hier die Zahlen bei 34, 35, 44 und 47%.

4. Die höchste Menge, welche ein Tier während einer halben Stunde absorbiert hat, war 109 mg, sicher nicht ausreichend, um bei einem Tier von 2,7 Kilo eine Säurevergiftung hervorzubringen.

5. Pathologisch-anatomisch ist interessant, dafs wir Epithelablösbarkeit in der Trachea konstatierten, auch ohne dafs die Reaktion derselben sauer war. Es erklärt sich dies offenbar so, dafs geringe Säuremengen bis in die Trachea gelangten, dort die Schädigungen hervorbrachten, aber gebunden waren, bis es zur Untersuchung kam.

Vergleichen wir die Giftigkeit der Salzsäure und schwefligen Säure nach unseren Tierversuchen, so zeigt sich, dafs die Wirkung bei gleichem Gewichtsgehalt ziemlich ähnlich ist, immerhin ist die schweflige Säure entschieden etwas giftiger, der Tod tritt früher ein, die Lungenveränderungen sind stärker. An letzterem Umstand ist die schlechtere Absorbierbarkeit der schwefligen Säure durch die oberen Wege jedenfalls schuld. — Noch mehr tritt die stärkere Giftwirkung der schwefligen Säure hervor, wenn wir die Wirkung von einem Molekül schwefliger Säure mit dem von einem Molekül Salzsäure vergleichen, bei dem fast doppelt so grofsen Molekulargewicht der SO_2 ergibt sich eine wenigstens doppelt so grofse Giftigkeit. Es mag die reduzierende Wirkung der SO_2 schuld sein.

Am Menschen hat Dr. Yamada mit schwefliger Säure 3 Versuche und zwar an sich selbst angestellt. In einem kleinen Zimmer wurde im ersten Versuch durch Erhitzen einer Mischung von Natriumsulfit und Schwefelsäure, im 2ten und 3ten durch

Tabelle XI.

Tierversuche mit SO_2. Analytischer Teil.

	durch die Trachea		durch die Nase		durch die Trachea		
	I	III	II	IV	V	VI	VII
Zeitdauer . . . . . . Min.	25	30	17	30	15	30	30
Tiergewicht . . . . g	2300,0	2700,0	2520,0	2700,0	3000,0	3400,0	2200,0
Atemfrequenz pro Minute .	42	56	29	38	46	48	33
Atemvolum pro Minute . .	350,0	480,0	425,0	550,0	550,0	600,0	330,0
Volum eines Atemzuges ccm	8,3	8,6	14,6	14,0	11,0	12,5	10,0
Gesamtes Atem-Volum Liter	8,8	14,4	7,2	16,5	8,25	18,0	9,9
Die Vorlage enthält . mg	97,3 (10 ccm ohne Wechsel)	223,7 (10 cm 1 mal Wechsel) (also 20 ccm)	223,8 (10 ccm 1 mal Wechsel) (also 20 ccm)	361 • (10 ccm 5 mal Wechsel) (also 60 ccm)	148,68 (10 ccm ohne Wechsel) (also 10 ccm)	40,16 (10 ccm 5 mal Wechsel) (also 60 ccm)	63,28 (10 ccm 11 mal Wechsel) (also 120 ccm)
Vorlage nach dem Versuch mg	8,3	25,0	103,3	128,7	15,12	16,08	52,36
Eingeatmete Menge . . mg	89,0	198,7	120,5	232,3	133,56	24,08	10,92
Nachlage	58,6	89,5	77,8	123,2	74,76	10,08	4,48
Absorbierte Menge total . .	30,4	109,1	42,7	109,1	58,8	14,00	6,44
Inspirationsluft im Liter . .	10,0	13,8	16,7	14,0	16,0	1,33	1,092
Exspirationsluft im Liter . .	6,6	6,6	10,8	7,4	9,0	0,56	0,448
Absorptionsmenge pro Liter	3,4	7,6	5,9	6,6	7,0	0,77	0,644
» pro Minute	0,13	0,25	0,35	0,22	0,5	0,0256	0,0214
» pro Kilo	0,052	0,09	0,14	0,096	0,16	0,0075	0,0098
» % der Inspirationsluft	34	55	35	47	44	57,6	58,6

Tabelle XII. Tierversuche

	Versuchs-Nummer	Tiergewicht g	Zeitdauer Min.	Verhalten und Schicksal der Tiere	Gehalt der Inspirationsluft mg pro 1 Liter	Absorptions-Menge mg pro 1 Liter
Tracheal-Atmung	VII	2200,0	30	Am Versuchsende wohl, wird getötet	1,092	0,644
›	VI	3400,0	30	Atmet a. Versuchsende ohne Schwierigkeit, wird getötet	1,33	0,77
›	I	2300,0	25	Stirbt am Ende des Versuchs	10,0	3,4
Nasen-Atmung	II	2520,0	17	Stirbt am Ende des Versuchs	16,7	5,9
›	IV	2700,0	30	Am Versuchsende ziemlich wohl, getötet.	14,0	6,6
Tracheal-Atmung	V	3000,0	15	Stirbt am Ende des Versuchs	16,0	7,0
›	III	2700,0	30	Am Versuchsende ziemlich wohl, wird getötet	13,8	7,6

Verbrennen von Schwefel und fleifsiges Mischen der Luft mit Tüchern ein möglichst gleichmäfsiger Gehalt an schwefliger Säure hergestellt und durch Durchsaugen von 14 Liter dieser Luft durch 2 Jodvorlagen der Gehalt der Inspirationsluft bestimmt. Die Exspirationsluft wurde nach meiner Aspirationsmethode (Seite 57) untersucht. Die Versuchsperson blies die ganze Exspirationsluft durch 2 mit Jodlösung gefüllte Vorlagen in einen

mit SO_2. Sektionsresultate.

Nase	Trachea	Bronchien	Lunge
—	Keine Veränderung. Reaktion neutral	Keine Veränderung. Reaktion neutral	Etwas Emphysem
—	»	»	Einige kleine Hämorrhagien, etwas Emphysem
—	Reaktion alkalisch, etwas schaumige Flüssigk. Schleimhaut zeigt Hyperämie	Etwas schaumige Flüssigkeit, alkalische Reaktion	Ödem, eine Anzahl kleiner und gröſserer Hämorrhagien
Naseneingang saure Reaktion, Nasenhöhlen jedoch alkalisch	Epithel überall leicht abzuschälen. Keine Flimmerbewegung	Keine deutliche Veränderung	Einzelne kleine Hämorrhagien, mäſsiges Lungenödem u. etwas Emphysem
»	Keine Flimmerbewegung. Trachea scheinbar normal	»	Im linken Unterlappen scheint pneumonische Infiltration zu sein, die anderen Lappen zeigen Emphysem und kleine Blutungen
—	Reaktion neutral, sehr starke Hyperämie, Epithel leicht ablösbar	Viel schleimige Flüssigkeit von rötlicher Farbe	Ödem, zahlreiche groſse und kleine Hämorrhagien, wenig Luft. Am Rande der Lunge emphysematöse Veränderungen
—	Reaktion neutral, Schleimhaut zeigt matte Oberfläche und läſst sich leicht in Form von kleinen Fetzchen abheben	»	Starkes Ödem. Groſse Anzahl groſser und kleiner Blutaustritte

groſsen Gasometer, aus dem das Wasser durch einen Heber mit der Geschwindigkeit abgesaugt wurde, wie es für ein bequemes Atmen notwendig war. Im ersten und zweiten Versuch wurde die schweflige Säure gewichtsanalytisch in den Vorlagen bestimmt, im dritten Versuch, bei dem hinter die Jodgefäſse noch ein Thiosulfatgefäſs geschaltet war, wurde der Gehalt jodometrisch ermittelt.

In tabellarischer Übersicht lauten die Ergebnisse der Menschenversuche:

	I	II	III
Gesamtes Atem-Volum in Liter	14	14	14
Eingeatmete Menge enthielt mg	5,32	9,44	8,32
Die Nachlage enthielt . . . ›	1,12	3,24	2,24
Also absorbiert . . . . . . ›	4,2	6,10	6,08
Gehalt der Inspirationsluft pro Liter . .	0,38	0,68	0,59
› › Exspirationsluft › › . . .	0,08	0,23	0,16
Absorbiert pro Liter	0,3	0,44	0,43
› in %	79	65	73

Die drei Versuche stimmen untereinander im wesentlichen gut überein. Die Absorption ist um so vollständiger, je niedriger der Gehalt der Inspirationsluft ist, eine Tatsache, die ich früher bei Ammoniak ebenfalls gefunden habe.

Die Absorptionsgröfse ist auch bei den Menschenversuchen bei der schwefligen Säure mit 65—70% entschieden kleiner als bei der Salzsäure, von der, wie wir sahen, dafs 89—96% absorbiert wurden. Es liegt dies offenbar wieder an der stärkeren Tension der schwefligen Säure in wässeriger Lösung.

Wie bei der Salzsäure ist auch hier wieder die Absorption der Schwefligen Säure in den Menschenversuchen erheblich besser als in den Tierversuchen, bei denen 58% die höchste Menge war.

Bedenkt man aber, dafs die am Menschen angewendeten Konzentrationen nur etwa im Maximum die Hälfte betragen von den kleinsten Dosen, die wir dem Tier zugemutet haben, und dafs bei diesen kleinen Dosen das Tier immerhin rund 58% absorbiert, so stimmen die Menschenversuche mit den Tierversuchen recht befriedigend überein — befriedigender wie bei der Salzsäure.

Es interessieren uns nun noch die absoluten Gehalte, welche Herr Dr. Yamada von SO_2 ½ Stunde ausgehalten hat; sie betrugen 0,38, 0,68 und 0,59 mg pro 1 Liter; das wären ca. 0,14, 0,24 und 0,21 Volum pro mille. Nach meinen früheren Untersuchungen sind 0,05‰ noch ½—1 Stunde ohne besondere Stö-

rungen von Ungewohnten zu ertragen, Sulfitarbeiter vertragen 0,1—0,2 ohne Beschwerden und auch ich und meine damaligen Assistenten und Mitarbeiter hatten 0,1—0,2 $^1/_4$ Stunde ohne ernstere Störung, wenn auch mit grofser Selbstüberwindung ausgehalten. Dr. Yamada war etwas weniger empfindlich wie wir, doch litt er auch bei den Versuchen. Beim ersten Versuch waren namentlich Geruchbelästigungen und Reizerscheinungen in der Nasenschleimhaut zu bemerken, die mit sehr starker Sekretion der Nase und heftigem Niesen verbunden waren. — Im zweiten und dritten Versuch mit den stärkeren Dosen kamen dazu noch Augenschmerzen und heftige Tränensekretion Die Nasensekretion dauerte noch ziemlich lang nach dem Versuch fort. Es wurde von diesen kleinen Dosen etwa die gleiche molekulare Konzentration ertragen wie von Salzsäure.

5. Untersuchungen über die Absorption von Essigsäuredämpfen.

Genau nach der gleichen Methode, wie wir sie bei der Salzsäure angewendet, haben wir auch Versuche mit Essigsäure (Eisessig) gemacht, nachdem ein Vorversuch gezeigt hatte, dafs man, wenn man durch Eisessig Luft einsaugt, einen sehr intensiven Essigsäuregehalt der Luft erzielt. Leicht war es, die Titerabnahme des Eisessigs resp. die Essigsäuremenge festzustellen, welche an die Luft überging. Ohne Tier fand sich in den zwei ersten Versuchen ohne weiteres durch Titrierung der nachgelegten Natronlauge mit $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure unter Verwendung von Phenolphtalein als Indikator genau die Essigsäure wieder, die aus der Vorlage weggegangen war. Dagegen wurde die Bestimmung der Essigsäure in der Exspirationsluft sehr erschwert durch den Kohlensäuregehalt derselben. Es gibt keinen Indikator, der gegen Essigsäure und Kohlensäure genügend verschieden reagierte, um titrimetrisch arbeiten zu können.

Methode I. Wir bestimmten in einem blinden Versuch, bei dem das Tier einfach durch Natronlauge gestrichene Zimmerluft einatmete und in Natronlaugenachlagen ausatmete, wie viel dasselbe in einer halben Stunde mittelst Phenolphtalein titrierbare

Kohlensäure produzierte. Hierauf schlofs sich ein Versuch an dem gleichen Tier an, wobei es diesmal durch Essigsäure einatmete und in der Nachlage Essigsäure und Kohlensäure aufgefangen und mittelst Phenolphtalein titriert wurden. Zogen wir die während einer halben Stunde im ersten Versuch ausgeschiedene Kohlensäuremenge von der im zweiten Versuch ermittelten ausgeschiedenen Gesamtsäuremenge ab, so hatten wir die ausgeschiedene Kohlensäuremenge.

Als Methode II haben wir folgendes Verfahren angewendet: Es wurde durch Essigsäure gegangene Luft eingeatmet, die Exspirationsluft in Natronlauge aufgefangen, dieselbe mit überschüssiger Schwefelsäure versetzt und eine halbe Stunde lang nach Erwärmen auf 40° fleifsig geschüttelt. Man durfte annehmen, dafs jetzt die Kohlensäure verjagt sei, ohne dafs Essigsäure ausgetrieben worden wäre. Titriert man jetzt mit Natronlauge zurück, so ergab eine einfache Rechnung die Menge der absorbierten Essigsäure frei von Kohlensäure.

Die Versuche teile ich wieder nur in kurzer tabellarischer Form (S. 89—92) mit.

Aus den Tierversuchen mit Essigsäure läfst sich schliefsen:

1. Die Essigsäure ist entschieden weniger schädlich für die Tiere als die Salzsäure. Dosen von 76 und 59 mg geben selbst bei Trachealatmung in 30 Minuten keine andere Reaktion als starke Trachealhyperämie und saure Reaktion bis zum Anfang der grofsen Bronchien. Bei etwas weniger grofser Dosis (von 34 mg) und Trachealatmung war die Trachealschleimhaut nicht sauer. Bei Nasenatmung und Dosen von 31 und 36 mg ging die saure Reaktion nicht über den Naseneingang hinaus, aber die Atmung war (offenbar durch Schleimhautschwellung) sehr angestrengt, da der Mund verschlossen war.

2. Im übrigen war von pathologischen Symptomen aufser Trachealhyperämie und Randemphysem an der Lunge wenig Pathologisches zu finden; jedenfalls kein Ödem wie bei der schwefligen Säure und keine Hämorrhagien.

3. Die Absorption der Essigsäure schwankt in unseren Tierversuchen zwischen 62 und 86%, ohne dafs ich bei kleineren

Tabelle I.

Tierversuche mit Essigsäure (analytischer Teil.

	durch die Trachia		durch die Nase		durch die Trachea		
	I (1)	II (2)	III (1)	IV (2)	V (1)	VI (2)	VII (1)
Zeitdauer . . . . Min.	30	30	30	30	30	30	30
Tiergewicht . . . . g	1930,0	1900,0	2030,0	2300,0	2600,0	2700,0	2600,0
Atemfrequenz pro Minute	27	34	38	28	45	47	24
Atemvolum ccm pro Minute	190,0	240,0	250,0	320,0	450,0	380,0	280,0
Volum eines Atemzugs ccm	7,0	7,0	6,6	11,5	10,0	8,2	11,7
Gesamtes Atemvolum Liter	5,2	7,2	7,5	9,6	13,5	11,4	8,4
Die Vorlage enthielt Essigsäure	3936,0	3936,0	3936,0	3936,0	968,4	968,4	3900,0
Vorlage nach dem Versuch enthält Essigsäure mg	3480,0	3447,0	3492,0	3486,0	856,8	864.0	3486,0
Eingeatmete Menge Essigsäure . . . . . . mg	456,0	489,0	444,0	450,0	111,6	104,4	414,0
Nachlage enthält Essigsäure . . . . mg	60,0	66,0	168,0	144,0	33,6	36,0	126,0
Absorbierte Menge, total	396,0	423,0	276,0	306,0	78,0	68,4	388,0
Inspirationsluft im Liter	87,7	68,0	59,0	46,0	7,9	8,7	49,0
Exspirationsluft »	11,5	9,0	22,4	15,0	2,3	3,0	15,0
Absorbierte Menge pro Liter	76,2	59,0	36,6	31,0	5,6	5,7	34,0
» » pro Minute	2,54	1,9	1,22	1,03	0,18	0,19	1,1
» » pro Kilo	1,6	1,0	0,61	0,44	0,06	0,07	0,42
» % der Inspirationsluft . . .	86	86	52	69	70	65	69

Tabelle XIV. Tierversuche

	Versuchs-Nummer	Tiergewicht g	Zeit-dauer Min.	Verhalten und Schicksal der Tiere	Gehalt der Aspirations-luft mg pro 1 Liter	Absorp-tions-Menge mg pro 1 Liter
Tracheal-Atmung	V	2600,0	30	Am Versuchsende wohl, wird getötet	7,9	5,6
»	VI	2700,0	30	»	8,7	5,7
Nasen-Atmung	IV	2300,0	30	Am Ende des Versuchs ziemlich krank, wird getötet	46,0	31,0
Tracheal-Atmung	VII	2600,0	30	Em Ende des Versuchs ziemlich wohl, wird getötet	49,0	34,0
Nasen-Atmung	III	2030,0	30	Atmet am Ende des Versuchs mit ziemlicher Schwierigkeit, wird getötet	59.0	36,6
Tracheal-Atmung	II	1900,0	30	Am Ende des Versuchs ziemlich wohl, wird getötet	68,0	59,0
»	I	1930	30	»	87,0	76,2

und gröfseren Dosen eine wesentlich verschiedene Absorption beobachten konnte, und ohne dafs die Absorption durch die Nase oder durch die Trachea wesentlich verschieden vollkommen gewesen wäre. Wenn man wollte, könnte man aus den Versuchen das offenbar unrichtige Resultat ableiten, dafs die Absorption bei der Einatmung durch die Nase unvollständiger sei als durch die Trachea. Dieses Resultat ist ja absolut unmöglich und zeigt, dafs man nicht zu weit gehen soll in der Diskussion kleiner Differenzen der einzelnen Versuche. Es spielen hier offenbar auch individuelle Differenzen der Tiere und vielleicht der Alkalivorräte der Tiere eine Rolle, die sich zur Zeit noch nicht übersehen lassen.

mit Essigsäure (pathologischer Teil).

Nase	Trachea	Bronchien	Lunge
—	Reaktion neutral, keine Veränderung	Reaktion neutral, keine Veränderung	Reaktion neutral, etwas emphysematische Veränderung, einige kleine Blutungen
—	»	»	»
Naseneingang zeigt saure Reaktion, hinterer Teil der Nase alkalisch	Schleimhaut feucht, reagiert alkalisch, mäfsige Hyperämie	Rötliche (blutige) Verfärbung	Zieml. starkes Emphysem
—	»	»	»
Naseneingang zeigt saure Reaktion; sonst überall alkalisch	»	»	»
—	Saure Reaktion, sehr starke Hyperämie	Saure Reaktion bis zum Anfang der grofsen Bronchien	»
—	»	»	»

4. Wenn die Essigsäureversuche etwas schlechter untereinander stimmen, als die anderen, so kommt dies daher, dafs die Bestimmung der Essigsäure mit wesentlich gröfseren Schwierigkeiten verbunden ist, wegen der gleichzeitig anwesenden Kohlensäure.

Die Versuche mit Essigsäuredampfwirkung am Menschen, von denen Dr. Yamada 3 an sich angestellt hat, ergaben kein abschliefsendes Resultat. Die Inspirationsluft, nach der Absorptionsmethode untersucht, enthielt 2—3 mg Essigsäure und wirkte äufserst belästigend. Sowohl die Nasen- als Kehlkopf- und Augenschleimhaut wurde so gereizt, dafs der Aufenthalt in dem Gase nicht über 3 Minuten ausgedehnt werden konnte. In 5 Litern

Exspirationsluft, die nach der Flaschenmethode gesammelt wurden, konnte Dr. Yamada nach einer von mir angegebenen indirekten Methode keine Kohlensäure finden. Er gab in die Exspirationsluftflasche titriertes Barytwasser, filtrierte dasselbe nach der Absorption unter allen Kautelen und bestimmte die Titerabnahme des Filtrates und nach Zerlegung mit Schwefelsäure den CO_2 Gehalt des Filterrückstands unter Auffangen der Kohlensäure in Barytwasser. Es erwies sich leider die Azidität der aus dem Niederschlag ausgetriebenen Kohlensäure stets etwas gröfser als die Gesamttiterabnahme des Filtrates. Dieses Resultat ist nur zu erklären durch etwas CO_2 Aufnahme beim Filtrieren und durch einen recht geringen Essigsäuregehalt der Exspirationsluft. Wir können also nur sagen, dafs offenbar wie die anderen Säuren auch die Essigsäure vom Menschen sehr gut absorbiert wird, wenn sie in mäfsiger Menge eingeatmet wird. Über Essigsäure sind weitere Versuche entschieden nötig.

Fassen wir zum Schlufs unsere Ergebnisse über Säureabsorption zusammen, so lassen sie sich in folgende Sätze kleiden:

1. Von den drei Säuren, Salz-, Essig- und schweflige Säure werden die beiden ersteren ungefähr gleich stark, d. h. 70%, die schweflige Säure entschieden schlechter, d. h. nur im Mittel etwa 46% durch das Tier absorbiert.

2. Diese Zahlen wachsen bedeutend, wenn es sich um Absorption durch den Menschen und um die Einatmung von kleinen noch erträglichen Dosen handelt, dann haben wir für

Salzsäure 91%
schweflige Säure 72% gefunden.

Für Essigsäure können wir nur sagen, dafs ihre Absorption durch den Menschen sehr vollständig zu sein scheint.

3. Die geringere Schädlichkeit der Essigsäure gegenüber der Salssäure könnte sich zum Teil aus dem fast doppelt so hohen Molekulargewicht der ersteren erklären. Die Wirkung von einem Molekül Essigsäure und Salzsäure ist entschieden ziemlich ähnlich.

4. Bei Einatmung durch die Nase ist der Kehlkopf und die Trachea in hervorragendem Mafse gegen Säurewirkung geschützt

Nur in einem Versuch VII mit Salzsäure zeigte sich eine saure Reaktion des hinteren Naseneingangs. Kehlkopf und Trachea waren bei Nasenatmung immer neutral und niemals stärker angegriffen. Es ist damit natürlich nicht gesagt, dafs nicht auch etwas Säure durch die Nase in Trachea und Kehlkopf gelangt ist, aber die Mengen waren so gering, dafs sie in der Trachea keine saure Reaktion hervorzubringen vermochten.

5. Die absoluten Mengen der absorbierten Säure sind in unsern Versuchen im wesentlichen die gleichen bei Nasen- und Trachealatmung, ein sicheres Urteil über die Beteiligung der Lunge selbst an der Absorption im letzteren Falle ist durch unsere Methodik nicht zu geben.

6. Untersuchungen über die Absorption von Schwefelkohlenstoff.

In meiner ersten Untersuchung über die Absorption des Schwefelkohlenstoffdampfes (A. H. XVII.) war ich nicht in der Lage ein abschliefsendes Resultat über die Absorption durch den Menschen mitzuteilen, ich fand, dafs mindestens 65—70% ausgeatmet wurden und höchstens etwa 30—35% absorbiert wurden.

Mein Schüler Hertel, der nach der gleichen Methode wie ich am Menschen arbeitete, kam sogar nur auf eine Absorption von 3,6—7,8% in 5 ziemlich gut unter einander stimmenden Versuchen.

Es war deshalb immer mein Bestreben gewesen, die Schwefelkohlenstoffabsorption einmal einem Spezialstudium zu unterziehen, ein Wunsch, der in Erfüllung ging, als mich Herr Joseph Wiener um ein Dissertationsthema ersuchte.

Zunächst bestimmten wir, dafs man wirklich in 2 Nachlagen mit alkoholischer Kalilauge quantitativ genau die Schwefelkohlenstoffdampfmenge auffangen kann, die man aus einer gewogenen Schwefelkohlenstoffvorlage wegsaugt. In alkoholischer Kalilauge bildet sich Kaliumxanthogenat und dies läfst sich nach Gastine jodometrisch bestimmen. Zu diesem Zwecke wurde der Inhalt der beiden Nachlagen in einen Mefszylinder gegossen, die Absorptionsgefäfse mit Wasser nachgespühlt, durch Essigsäure eine

schwach saure Reaktion hergestellt und diese durch Kalziumkarbonat in eine neutrale übergeführt. Jetzt wurde auf 250 cc aufgefüllt und 2 Fünftel jodometrisch titriert. Wir arbeiteten mit $^1/_{10}$ oder $^1/_{20}$ Normaljodlösung, von denen 1 cc = 7,6 resp. 3,8 mg Schwefelkohlenstoff anzeigt. Unsere mehrfachen Kontrollversuche ergaben, dafs man so den Schwefelkohlenstoffdampf mit einer Genauigkeit von — 1,3 bis + 3% wiederfindet. Eine gröfsere Genauigkeit war überhaupt nicht zu erwarten.

Die Tierversuche (bisher waren noch keine angestellt gewesen) waren nach dem Prinzip der Müllerschen Ventile angeordnet wie die früheren, nur verzichteten wir auf Versuche von der Nase aus und begnügten uns mit solchen an tracheotomierten Tieren. In einem wichtigen Punkte wich aber unsere Anordnung von der bei den früheren Versuchen ab, es erwies sich als unmöglich, die Luft durch Schwefelkohlenstoff streichen zu lassen und das Schwefelkohlenstoffgefäfs als Inspirationsventil zu benützen, die Luft nimmt dabei zu reichlich Schwefelkohlenstoff auf. Wir verfuhren viel mehr nach Schema (Fig. 1).

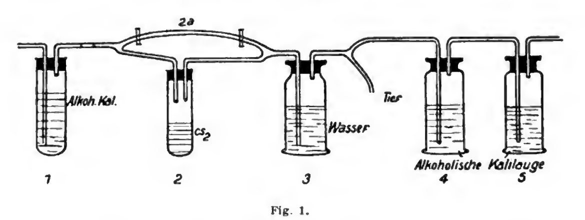


Fig. 1.

Die Vorlage 2 enthielt etwas gewogenen CS_2 oder meist eine Lösung von CS_2 in Olivenöl, als Inspirationsventil diente die Flasche 3 mit destilliertem Wasser, um einen Verlust von CS_2 Dämpfen bei starker Exspiration zu verhüten, wurde die Vorlage 1 mit alkoholischer Kalilauge vorgeschaltet.

Es mufste natürlich der Inhalt aller von der Inspirationsluft und von der Exspirationsluft durchstrichenen Gefäfse titriert werden.

Die Tiere waren alle mit 0,8—1,6 g Chloralhydrat pro Kilo narkotisiert, die verwendeten Glasröhren wurden nur durch ganz kurze Gummischläuche verbunden. Der Versuch dauerte stets 60 Minuten, nach Schlufs desselben wurde stets das Schwefelkohlenstoffröhrchen ausgeschaltet und durch den bis dahin geschlossenen Nebenweg 2a geatmet, um alle im Apparat noch vorhandenen Dämpfe durch Luft zu ersetzen.

Die Versuche in tabellarischer Anordnung nach steigenden CS_2 Konzentrationen geordnet ergaben:

Versuchs-Nr.	Gewicht des Tieres in mg	Injizierte Menge Chloralhydrat in mg	In 1 Stunde wurde			Absorption in %
			inspiriert CS_2 in mg	exspiriert CS_2 in mg	absorbiert CS_2 in mg	
6	1970	2,5	620,38	500,08	120,30	19,4
10	1700	1,7	208,70	155,04	53,66	25,7
9	2200	2,2	156,68	122,36	34,32	21,7
8	1350	1,5	131,38	100,32	31,06	23,6
11	1280	1,0	118,98	79,80	39,18	32,9
12	1280	1,25	97,48	72,94	24,54	25,6
7	1400	1,5	95,80	79,04	16,76	17,5
2	1850	1,5	40,20	26,60	13,60	33,8
3	2400	2,75	39,46	30,40	9,06	23,0
4	2240	2,25	38,85	31.92	6,93	17,7
5	1240	2,0	32,72	31,92	0,80	2,4
1	1600	1,5	30,96	29,64	1,32	4,3

Der Versuch Nr. 1 dürfte als erster in seiner Art keinen grofsen Anspruch auf Genauigkeit machen, zumal da die Konzentration der Inspirationsluft sehr gering war.

Bei Versuch Nr. 5 wurde ein schwächliches Tier verwendet, das aufserdem mit einer relativ viel zu grofsen Dosis Chloralhydrat narkotisiert war (pro kg Körpergewicht 1,6 g Chloralhydrat, während schon 0,8 g als hinreichend erprobt war; also gerade die doppelte Dosis!). Die Atmung des Tieres war deshalb nur oberflächlich.

Trotzdem glaubte ich, diese beiden Versuche nicht verschweigen zu dürfen.

Abgesehen von diesen beiden Versuchen ergibt sich aus den anderen eine Schwefelkohlenstoffabsorption, zwischen 17,5 und 33,8% schwankend.

Das Mittel aus den Versuchsresultaten ergibt eine Absorption von 20,6%.

Die Menschenversuche, von denen Herr Wiener 3 an sich anstellte, sind wie meine früheren nach der Röhrenmethode ausgeführt.

In einem Zimmer, dessen Volumen 53,37 cbm war, wurde bei stets 15° Zimmertemperatur eine gewisse Menge CS_2 (113—120 ccm) auf den Boden geschüttet und verdampfen lassen. Mittelst eines grofsen Fächers wurde die Luft heftig bewegt und dadurch für eine möglichst gleichmäfsige Verteilung des CS_2 in dem Raume gesorgt.

Der Gehalt der Inspirationsluft an CS_2 wurde auf die Weise bestimmt, dafs durch drei hintereinandergeschaltete, mit alkoholischer Kalilauge gefüllte Peligotsche Kugelröhren mittelst eines graduierten Aspirators aus direkter Nähe des Gesichtes der Versuchsperson die mit CS_2-Dämpfen beladene Zimmerluft hindurchgesaugt wurde.

Durch Titrieren wurde dann der CS_2-Gehalt pro Liter Luft bestimmt.

Zur Bestimmung des CS_2-Gehalts der Exspirationsluft wurde die Röhrenmethode folgendermafsen modifiziert:

Die Versuchsperson atmete in ein ca. 40 cm langes Rohr, das, um Kondensation der in der Exspirationsluft enthaltenen Wasserdämpfe zu vermeiden, während des Versuches von ungefähr 40° heifsem Wasser umspült war. Dieses Rohr lief an beiden Enden konisch zu; es brauchten also keine Gummistopfen verwandt zu werden und damit fiel auch die Sorge weg, dafs das Versuchsresultat bei den immerhin kleinen CS_2-Mengen, um die es sich bei diesen Versuchen handelte, durch Absorption des CS_2 von Seiten der Gummistopfen beeinflufst werden könnte.

Aus diesem Rohr wird die Exspirationsluft mittelst eines graduierten Aspirators durch vier hintereinandergeschaltete, mit

alkoholischer Kalilauge gefüllte Peligotsche Kugelröhren hindurchgesaugt.

Auf der Verbindungsstrecke zwischen der 40 cm langen Röhre und den 4 Peligotschen Kugelröhren ist seitlich eine in das Zimmer führende Glasröhre mit einem Gummischlauche angebracht.

Bei der streng nasalen Inspiration wird mit der Zunge das 40 cm lange Rohr verschlossen und der seitlich angebrachte Gummischlauch mit den Fingern komprimiert, sodafs der Aspirator keine Luft ansaugen kann.

Bei der labialen Exspiration gelangt die exspirierte Luft in die 40 cm lange Röhre und wird von hier mittelst des Aspirators durch die vier Kugelröhren gesaugt.

Um Dyspnoe der Versuchsperson zu verhindern wird der vorher komprimierte Gummischlauch geöffnet, sodafs die überschüssige Exspirationsluft ins Freie entweichen kann.

Durch Titrieren des Inhalts der vier Kugelröhren findet man die Schwefelkohlenstoffmenge, die in dem von dem Aspirator angezeigten Luftvolumen enthalten war, woraus man den CS_2-Gehalt pro 1 Exspirationsluft berechnet.

Im letzten dieser 5 Versuche bestand leichte Bronchitis und Rhinetis.

Das Mittel der Resultate dieser Versuche beträgt 23,7 % und nähert sich also sehr dem Mittel der Resultate der Tierversuche mit 20,6 %.

Übersichtstabelle der 5 Menschenversuche.

Versuchs-Nr.	Verdampft CS_2-Menge in ccm	Menge der untersuchten Inspirations-Luft in l	Menge der untersuchten Exspirations-Luft in l	CS_2-Gehalt der Insp.-Luft in toto in mg	CS_2-Gehalt der Exsp.-Luft in toto in mg	CS_2-Gehalt der Insp.-Luft pro l in mg	CS_2-Gehalt der Exsp.-Luft pro l in mg	Absorb. CS_2-Menge pro l in mg	Absorb. CS_2-Menge in %
1	115	11	16	16,698	19,734	1,518	1,233	0,285	18,8
2	120	10	16	16,698	20,493	1,670	1,281	0,389	23,3
3	120	14	16	28,842	24,288	2,060	1,518	0,542	26,3
4	113	14,4	14	22,770	18,216	1,581	1,301	0,280	17,8
5	120	15	14	28,842	18,216	1,923	1,301	0,622	32,2

Vergleichen wir zum Schlusse unsere Werte, die eine Absorption von rund 22% ergaben, mit denen von Herrn Hertel, der eine Absorption von nur 2—8% fand, so müssen wir sagen, wir sind aufser stande, diese Differenzen erklären zu können. Vorläufig ist schwer zu verstehen, wie individuelle Verschiedenheiten hier eine Rolle spielen sollen.

Über das Vorkommen von Oxydationsfermenten bei Bakterien und höheren Pflanzen.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann** und Dr. **Sano** aus Japan.

(Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg.)

I. Über die Fähigkeit der Bakterien Tyrosin zu oxydieren.

Während wir[1]) mit Studien über den besten Nachweis von Oxydationsfermenten beschäftigt waren, um nach solchen bei Bakterien zu suchen, erschien eine Arbeit von Gessard[2]), in der gezeigt wurde, dafs eine »melanogene« Varietät von Bacterium pyocyaneum auf gewissen tyrosinhaltigen eiweifsfreien Nährböden Tyrosin in einen braunen Körper verwandele.

Aber nicht nur Tyrosin wurde geschwärzt, sondern auf allen eiweifshaltigen Nährböden, auch wenn sie frei oder sehr arm an Tyrosin waren (Milch), wurde eine intensive Schwärzung dadurch hervorgebracht, dafs das Bakterium offenbar durch sein tryptisches Ferment Tyrosin herstellt.

Der Versuch, die Tyrosinase auszuziehen und getrennt vom Bakterium darzustellen, mifslang Gessard, trotzdem er einen Organismus untersuchte, der so aufserordentlich stark Tyrosin oxydierte.

1) Die vorliegende Arbeit ist schon 1902 als Dissertation von Herrn Sano in ausführlicher Form veröffentlicht. Ich hoffte immer Zeit zu finden, die interessante Frage weiter zu verfolgen, sehe mich aber nun doch genötigt, einstweilen die vorliegenden Ergebnisse mitzuteilen.

2) Gessard, Annales de l'Inst. Pasteur. Bd 15 (1901) S. 817.

Auf Grund unserer Studien haben wir folgende Reaktionen zum Nachweis von Oxydasen verwendet:

1. Die Bläuung von Guajakharzlösung. Nach Schönbein[1]) erzeugen die Oxydasen aus dem Luftsauerstoff Ozon, welches Guajakharz (resp. Guajakonsäure) in einen intensiv blauen Körper verwandelt. Von dieser Reaktion ist nach Schönbein streng zu scheiden eine andere, welche auf der Eigenschaft mancher Fermente beruht, aus $H_2 O_2$ Ozon abzuspalten[2]) und es auf Guajaklösung zu übertragen. Bei der Verwendung dieser Reaktion ist nach Schär[3]) zu berücksichtigen, dafs das Guajakharz die Eigenschaft besitzt, unter der Wirkung selbst diffusen Tageslichtes, infolge einer Tendenz zu spontaner Sauerstoffaufnahme, Guajakblau zu bilden. Andererseits begünstigt die Wärme eine Zerlegung jener wenig beständigen blauen Verbindung. Eine grofse Empfindlichkeit der Guajakreaktion besteht sowohl gegen Säuren, wie insbesondere gegen Alkalien. Schwach essigsaure Reaktion schadet nicht, sie ist jedenfalls einer auch nur schwach alkalischen Reaktion vorzuziehen. Endlich mufs empfohlen werden, dafs man frische Guajaktinktur verwende, da die alte öfters Wasserstoffsuperoxyd enthält, was den Wert der Probe herabsetzt.

2. Die Rotfärbung von Barbadosaloe. Von ähnlicher Bedeutung wie die Guajakreaktion ist eine andere Oxydationsreaktion die sog. »Aloïnrotreaktion« (Schär[4]). Setzt man zur Fermentlösung eine verdünnte wässerige Lösung von Barbadosaloë, so tritt die Rotfärbung ein. Sie soll beruhen auf der

---

1) In der Übersicht von Schär, Z. f. Biol. 37 (1899) 320.

2) Weit verbreitet und sehr vielen käuflichen Fermenten beigemischt findet sich ein Katalase oder Hyperoxydase genannter Körper, welcher aus $H_2 O_2$ Sauerstoff abspaltet. Das ist aber kein Oxydationsferment im obigen Sinne.

3) Schär, Verh. d. Nat.-Forscher-Ges., Basel, Bd. 13, Heft 2.

Wir haben uns von der Richtigkeit aller dieser Angaben überzeugt und können nur bedauern, dafs wir nicht von allem Anfang an, die sorgfältigen Angaben von Schär gekannt haben.

4) Schär, Verh. d. Nat.-Forscher-Ges., Basel, Bd. 13, Heft 2.

Gegenwart von »Isobarbaloin«. Nach Schär tritt diese Reaktion in folgenden Fällen ein.

a) Bei Einwirkung von Kupfersalzen und löslichen Cyanverbindungen.

b) Durch Einwirkung einer Anzahl direkter Oxydationsmittel.

c) Durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd in Gegenwart sog. ozonübertragender Materien im Sinne Schönbeins.

d) Die Aloërotfärbung tritt auch durch spontane Aufnahme von Luftsauerstoff ein, wenn die Lösungen, namentlich unter leichter Erwärmung, einige Zeit in Kontakt mit Luft stehen.

3. Die Braun-schwarzfärbung von Tyrosin. Setzt man gewisse Oxydasen zu einer verdünnten Lösung von Tyrosin, so tritt allmählich rote und dann schliefslich braune und schwarze Färbung ein. (Reaktion von Bertrand und Bourquelot.)

Diese »Tyrosinase«reaktion kommt lange nicht allen Oxydasen zu, während die Aloë- und namentlich die Guajakreaktion sehr verbreitet vorkommen.

Unsere eigenen Versuche begannen damit, eine gröfsere Anzahl von Bakterien auf Fleischextraktpeptongelatine zu züchten, welcher 0,5% Tyrosin zugesetzt war. Besonders durfte man bei Actinomyces chromogenes Gasparini (der ja schon gewöhnliche Nährböden braun verfärbt) eine kräftige Reaktion erwarten. Zweitens war zu hoffen, dafs vielleicht einer unserer 4 Stämme von Bacterium pyocyaneum Tyrosin bräune, auch von den Leuchtbakterien, in deren Kulturen ja sichtbare Oxydationen verlaufen, war ein positives Resultat wahrscheinlich. Bei den übrigen Bakterien, die ja fast ausnahmslos starke Reduktionswirkungen in ihren Kulturen erkennen lassen, hatten wir wenig Hoffnung[1]).

Die Ergebnisse dieser Orientierungsversuche gibt folgende Tabelle:

1) Doch ist natürlich das Nebeneinanderbestehen von Oxydations- und Reduktionsvorgängen gar nichts merkwürdiges.

Tabelle I.
Braunfärbung auf tyrosinhaltigen Nährböden.

Sarcina lutea	—
Mic. pyogenes aureus	—
Mic. pyogenes albus	—
Mic. candicans	—
Mic. roseus	—
Bact. sept. haemorrhagicae	—
Bact. acidi lactici	—
Bact. pneumoniae	—
Bact. typhi	—
Bact. coli	—
Bact. prodigiosum	—
Bact. violaceum	—
Bact. fluorescens	?
Bact. putidum	+ +
Bact. pyocyaneum (4 Stämme)	?
Bact. syncyaneum	?
Bact. Zopfii	—
Bact. vulgare	—
Bact. murisepticum	—
Bact. erysipelatos suum	—
Bact. phosphorescens	+ +
Bac. subtilis	—
Bac. anthracis	—
Vibrio cholerae	—
Vibrio indicus (leuchtender Vibrio)	—
Corynebact. diphteriae	—
Corynebact. pseudodiphtheritic.	—
Actinomyces chromogenes	+ + +
Actinomyces chromogenes Var. alba	—
Actinomyces bovis	—

Nur 3 Arten gaben also eine stärkere Braunfärbung auf Tyrosinnährboden, weitaus am stärksten — und zwar viel stärker als ohne Tyrosin — Actinomyces chromogenes. Schwächer aber ganz unzweifelhaft war die Reaktion bei Bacterium putidum und Bacterium phosphorescens — bei allen anderen Arten fehlte sie ganz, oder war wenigstens doch nur in zweifelhaften Spuren vorhanden.

Im einzelnen scheinen folgende Beobachtungen mitteilungswert:

1. Actinomyces chromogenes. Schon nach 4 Tagen T-Gelatine bei Zimmertemperatur, bei 3 Tagen im Brut-

schrank trat kräftige Verfärbung auf. Die Färbung scheint der Wachstumsintensität parallel zu gehen. Zuckerzusatz begünstigt Wachstum und Braunfärbung (eine Ausnahme wurde gesehen). Das braunschwarze Pigment ist in Wasser löslich — es ist auf dem Tyrosinagar etwa dreimal so stark entwickelt, als auf gewöhnlichem Agar. Während auf eiweifs- und tyrosinfreien Nährboden nach 3—4 Tagen kaum eine Spur braune Färbung gebildet wurde, war die Verfärbung auf tyrosinhaltigem eiweifsfreiem Nährboden sehr deutlich.

2. Bacterium putidum (Bacterium fluorescens putidum Flügge). Die Braunfärbung ist mäfsig, vom 4.—5. Tag an ist sie deutlich zu sehen. Auf zuckerhaltiger T-Gelatine ist die Braunfärbung noch etwas stärker, auf eiweifsfreiem Tyrosinnährboden fehlt sie auch nicht. Die Kulturen ohne Tyrosin zeigten nur eine spurweise Färbung.
3. Bacterium phosphorescens. Der Stamm, den wir der Freundlichkeit von Prof. R. O. Neumann in Heidelberg verdankten, leuchtete mittelstark und verflüssigte die Gelatine mäfsig. Auf allen Nährböden mit Tyrosinzusatz bildete sich langsam bräunlichroter Farbstoff; bei Tyrosinmangel war keine Spur davon zu sehen.

Von den Arten, welche keine Braunfärbung lieferten, ist nur folgendes zu bemerken:

Vibrio indicus leuchtete prachtvoll, zeigte also kräftige Oxydationsprozesse — aber war ohne jede oxydierende Wirkung auf Tyrosin!

Bacterium pyocyaneum, das in 4 verschiedenen Stämmen Verwendung fand, die alle auf den üblichen Nährböden kein Pyozyanin bildeten, verfärbte Tyrosin nicht; es fiel in allen Versuchen auf, dafs die Kulturen ohne Tyrosin stärker fluoreszierten als die tyrosinhaltigen.

Bacterium prodigiosum ist ohne Einflufs auf Tyrosin, aber in mehrfachen Wiederholungen und Kontrollen zeigte sich stets die Prodigiosinbildung merklich vermehrt durch Tyrosinzusatz

Es wurde nun die Intensität der Verfärbung von Nährböden mit verschiedenem Tyrosingehalt geprüft.

Auf Gelatine, die mit verschiedenen Mengen Tyrosin versetzt war, z. B. 1,5‰, 1‰, 0,8‰, 0,5‰ etc., wurden Actinomyces chromogenes, Bact. putidum, Bact. phosphorescens gezüchtet.

Resultate: Am intensivsten und schnellsten war auf mit 1,5‰ Tyrosin versetzter Gelatine die Farbstoffbildung, so dafs bei Bact. phosphorescens und Bact. putidum am nächsten Tage schon dunkelbrauner, bei den langsam wachsenden Actinomyces chromogenes am 2. Tage tiefschwarzer Farbstoff gebildet war. Am schwächsten und langsamsten war die Farbstoffbildung auf mit 0,5‰ Tyrosin versetzter Gelatine, die wir gewöhnlich anwandten.

Es ist die Intensität der Braunfärbung von der Menge des zugesetzten Tyrosins in hohem Grad abhängig.

Bei dem schwächsten Grade der Verfärbung tritt ein trübes blasses Rotbraun, bei stärkerem Dunkelbraun, endlich Schwarzbraun auf.

2. Einige Studien über den Nachweis von Oxydasen in höheren Pflanzen.

Als Vorübung für das Studium der Frage: »Enthalten die tyrosinbräunenden Bakterien Oxydasen« beschäftigten wir uns nach verschiedenen Richtungen mit den leicht zugänglichen Oxydasen der höheren Pflanzen.

Der Nachweis der Oxydasen wurde so zu führen gesucht, dafs wir zerquetschte Pflanzenteile in mit 0,5‰ tyrosinhaltigen Agar in Petrischalen eindrückten. Stets wurden Kontrollen in tyrosinfreien Agar eingebettet und bräunliche Färbungen als unbeweisend angesehen, wenn sie auf beiden Arten Agar auftraten.

Tabelle II.
Früchte, Samen, Blätter und Wurzeln von Kulturpflanzen.

Kartoffel	+ + +
Äpfel	?
Gelbe Rüben	—
Schwarzwurzel	—

Selleriewurzel	—
Petersilienwurzel	—
Winterkohl	—
Zwiebel und Porėezwiebel	—
Rettig	—
Weizen (nicht geschält)	+++
Weizen (geschält)	+++
Weizenkleie	+++
Weizenmehl	—
Roggen (2 Sorten)	+++
Roggenkleie	+++
Linsen	—
Mais (2 Sorten)..	—
Buchweizen	—
Erbsen (ausgekeimt)	—
Erbsen (nicht ausgekeimt)	—
Bohnen (ausgekeimt)	—
Bohnen (nicht ausgekeimt)	—
Hafer	?
Gerste	—
Reis (geschält)	—
Reis (nicht geschält)	—
Panicum miliacum	—
Sorghum saccharatum	—
Tabakblätter	—

Tabelle III.

Vorwiegend Stengel milchsaftführender Pflanzen.

Rhus vernicifera	++
Rhus toxicodendron	—
Rhus typhina	—
Rhus cotinus	—
Rhus coriaria	—
Jatropha Manihot	—
Ricinus communis	—
Euphorbia Gerardiana	—
Euphorbia palustris	—
Zygophyllum fabago	—
Scorzonera hispanica	—
Campanula carpathica	—
Argemone mexicana	—
Bocconia cordata	?
Papaver orientale	++
Glaucium corniculatum	—
Sempervivum hirtum	—

Als Resultat geht aus dieser Tabelle hervor: Unter ca. 40 Arten, mit welchen experimentiert wurde, erzeugten auf der gewöhnlichen mit Tyrosin versetzten Gelatine (resp. Agar) einen braunschwarzen Farbenton nur folgende Arten:

Kartoffelknolle
Weizenkörner
Roggenkörner
Weizen- und Roggenkleie
Rhus vernicifera-Stengel
Papaver orientale-Stengel

Zweifelhaft war die Verfärbung auf tyrosinhaltigen Substraten bei Äpfel, Hafer und Bocconia cordata.

Bei Kartoffel beginnt schon nach 2 Stunden die braune Färbung, die allmählich dunkelbraun, am nächsten Tage ganz schwarz wird, während die Kontrolle ohne Tyrosinzusatz sich nur wenig braun gefärbt hat.

Um Weizen, Weizenkleie, Roggen und Roggenkleie bildete sich schon nach einigen Stunden ein brauner Farbstoff und dann allmählich bräunlichschwarze bis schwarze Färbung, während die Kontrolle entweder unverändert blieb oder nur ein wenig gebräunt wurde.

Bemerkenswert war es, dafs bei Weizen und Roggen nur die Kleie den schwarzen Farbstoff erzeugte, während wir bei Weizen- und Roggenmehl keine Farbstofferzeugung konstatieren konnten.

Die mikroskopische Untersuchung ergab an den braunschwarz verfärbten Kartoffelstücken und Weizenfragmenten folgendes: Bei Weizen schien namentlich der Inhalt der Querzellen dunkel gefärbt. Es fällt aber auf, dafs immer einzelne blafs sind. Es scheint, als ob zu den Zellen, die schwarze Farbe zeigen, leicht der Sauerstoff zutreten kann. Bei Kartoffeln sind mikroskopisch die Zellenwände ziemlich deutlich dunkel gefärbt, auch der Zellensaft, jedoch nicht stark.

3. Versuche mit der Tyrosinase des Weizens und der Kartoffel.

Kartoffel und Weizen hatten sich als besonders reich an Tyrosinase erwiesen, diese beiden Pflanzen eigneten sich demnach besonders gut zu einigen biologischen Versuchen.

Chlorform schädigt wie die übrigen Fermente auch die Tyrosinase nicht. Zerriebene Kartoffel 24 Stunden unter Schütteln in Chloroform aufbewahrt wirkt noch sehr gut auf Tyrosin.

Cyankalium schädigt wie alle Fermente auch die Tyrosinasewirkung erheblich. 0,5‰ Cyankalium einer Tyrosingelatine (oder Tyrosinagar) zugesetzt, läſst die Braunfärbung durch Kartoffel erst nach 3 Tagen schwach zur Entwicklung kommen, 1‰ und 2‰ lassen gar keine Tyrosinasewirkung auftreten. Kochen vernichtet jede Tyrosinasewirkung.

Zur Isolierung der Tyrosinase aus Weizen und Kartoffel verfuhren wir so:

1. Aus zerriebenen Kartoffeln und Weizenkleie wurden durch Glyzerin (2/3 Glyzerin, 1/3 Wasser) die Fermente ausgezogen und die Wirkung ihrer Filtrate gegen verschiedene Oxydasereagentien z. B. Aloë Guajak, Tyrosin, geprüft,
2. Die Glyzerinauszüge wurden durch Alkohol niedergeschlagen und die Niederschläge in Wasser gelöst. Die Wasserextrakte wurden gegen verschiedene Reagentien geprüft.
3. Die Glyzerinauszüge wurden durch Tonfilter abfiltriert und ihre Wirkung gegen verschiedene Oxydasereagentien geprüft.

Übersichtstabelle der Versuche mit Kartoffeln und Weizenkleie.

	Glyzerinauszug durch Filtrierpapier abfiltriert	Tonfiltrat des Glyzerinauszugs	Wässerige Lösung der Alkoholfällung des Glyzerinauszugs	Kontrolle (Glyzerinwasser)
Aloe (Rotfärbung)	+ + +	—	+ +	—
Guajactinktur (Blaufärbung)	+ + +	—	+ + +	—
Guajactinktur + H_2O_2 (Blaufärbung)	+ + +	—	+ + +	—
Tyrosin (Braunschwarzfärbung)	+ + +	—	+ +	—
H_2O_2 (Katalase)	+ + +	—	+ +	—

Die Reaktion des Glyzerinauszugs gegen Aloë beginnt 5 bis 10 Minuten (rosa), dann wird sie allmählich stärker (rot); am intensivsten (purpurrot) nach 5—6 Stunden. Sie kann sogar noch rascher eintreten, wenn man fleifsig schüttelt.

Beim Zusatz von Guajaktinktur tritt die Blaufärbung sofort nach einigen Minuten ein. Setzt man einige Tropfen Wasserstoffsuperoxyd zu, so tritt die Guajakreaktion noch stärker und rascher ein, als mit Guajaktinktur allein.

Mit Tyrosin tritt erst eine rote, dann allmählich eine braunschwarze Färbung ein.

Durch Wasserstoffsuperoxydzusatz tritt sofort starke Gasbildung ein.

Alle Reaktionen sind mit der wässerigen Lösung der Alkoholfällung des Glyzerinauszugs schwächer als mit Glyzerinauszügen allein.

Die Farbenreaktionen verschwinden allmählich von unten nach oben im Reagensgläschen. Durch Schütteln tritt die Färbung wieder ein; aber nicht mehr so stark wie am Anfang.

Stellt man die gleichen Extrakte aus gekochten Kartoffeln und Weizen her, so bekommt man absolut negative Resultate.

Auffallend war das Resultat, dafs durch Filtration durch eine Tonzelle jede Wirkung des Glyzerinauszugs verschwand.

Wir wiederholten deswegen die Versuche noch einmal mit rein wässerigem Kartoffelauszug von sehr starker Wirkung:

	Wasserauszug durch Filtrierpapier filtriert	Wässerige Lösung der Alkoholfällung des Wasserauszugs	Tonfiltrat des Wasserauszugs	Kontrolle (Wasser)
Aloe (rot)	+ + +	+ +	—	—
Guajaktinktur (blau)	+ + +	+ + +	+ +	—
Guajaktinktur + H_2O_2 (blau)	+ + +	+ + +	+ +	—
Tyrosin (Braunschwarz)	+ + +	+ +	—	—
H_2O_2 (Katalase)	+ + +	+ +	—	—

Die Guajakreaktion blieb zwar nach der Filtration durch Tonzellen noch ziemlich kräftig bestehen, aber nichts von den andern

Oxydationswirkungen. Zur Kontrolle überzeugten wir uns, dafs das diastatische Ferment der Kartoffel reichlich das Tonfilter passiert.

Dafs das Filter die Tyrosinase spurlos wegnimmt, während es die »Guajakase« nur vermindert, die Diastase nicht merklich beeinflufst, könnte daran liegen, dafs entweder überhaupt die Tyrosinase in sehr kleiner, die Guajaktase in mittlerer, die Diastase in sehr grofser Menge vorhanden ist, oder dafs zum Sichtbarwerden der Tryosinreaktion besonders grofse Mengen eines gemeinsamen Oxydationsferments nötig sind. Endlich aber könnte die Tyrosinase aus irgend welchen chemisch-physikalischen Eigenschaften im Filter zurückbleiben, man könnte daran denken, dafs sie gar nicht gelöst ist. Eine endgültige Erklärung für diese Beobachtung können wir nicht geben.

Jedenfalls ist es uns geglückt, durch Filtration, zwei Fermentwirkungen, wenn nicht zwei Fermente zu trennen.

4. Versuche aus Bakterien Oxydasen zu isolieren.

Nach den Vorarbeiten mit Kartoffeln und Weizen haben wir die gleichen Versuche mit Bakterien angestellt.

1. Aus zerriebenen Agarkulturen von Actinomyces chromogenes wurden durch Glyzerin ($^2/_3$ Glyzerin, $^1/_3$ Wasser) resp. Wasser allein die Fermente ausgezogen, und die Wirkung ihrer Filtrate gegen verschiedene Oxydasereagentien geprüft.
2. Die Glyzerinauszüge resp. Wasserauszüge wurden durch Alkohol niedergeschlagen und die Niederschläge in Wasser gelöst, die wässerige Lösung wurde gegen verschiedene Oxydasereagentien geprüft.
3. Die Glyzerinauszüge resp. Wasserauszüge wurden durch Tonfilter abfiltriert und ihre Wirkung gegen Oxydasenreagentien geprüft.

Tabellarische Übersicht.

	Glyzerinauszug[1]) durch Filtrierpapier filtriert	Wasserauszug durch Filtrierpapier filtriert	Wässerige Lösung der Alkoholfällung der Auszüge	Tonfiltrat des Glyzerin- oder Wasserauszugs	Kontrolle	
					Glyzerin und Wasser	Wasser
Aloe (rot)	+++	+++	+	—	—	—
Guajaktinktur (blau) .	Spur (?)	Spur (?)	Spur (?)	—	—	—
Guajaktinktur + H_2O_2 (blau)	Spur (?)	Spur (?)	Spur (?)	—	—	—
Tyrosin (braunschwarz)	—	—	—	—	—	—
H_2O_2 (Katalase) . . .	+++	+++	+	—	—	—

Das Resultat dieser Tabelle lautet: Während sich ein Aloë rötender Körper aus Actinomyces chrimogenes extrahieren läfst, ist die Guajakreaktion der Glyzerin- und Wasserextrakte minimal und zweifelhaft — eine Tyrosinreaktion fehlt in den Glyzerin- und Wasserauszügen ganz. Der Alkoholniederschlag der Auszüge gibt in Wasser gelöst etwas Aloëreaktion. Die Tonfiltrate sind wirkungslos — was man durch Absorption der Fermente in den Filtern erklären kann.

Eine befriedigende Erklärung für diese sonderbaren Befunde vermögen wir nicht zu geben. Es macht den Eindruck, als ob die »Aloïnase« und »Guajakase« verschiedene Körper seien, die sich durch ihre Löslichkeit unterscheiden. Eine Tyrosinase läfst sich überhaupt aus Aktinomyzenasen nicht ausziehen, dagegen wäre eine »Aloïnase« extrahierbar, fällbar und wieder löslich.

Glyzerin- und Wasserauszüge von Bacterium putidum und Bacterium phosphorescens verhalten sich wie solche aus Actinomyces chromogenes — nur war hier selbst die Aloëreaktion nicht sehr häufig. Kontrollversuche mit Micrococcus pyogenes und Bakterium coli lieferten sowohl gegen Aloë, wie gegen Guajak ganz wirkungslose Auzüge, was die Beweiskraft der positiven Reaktionen verstärkt.

Das interessanteste Resultat dieses Abschnittes ist, dafs es nicht gelang, eine lösliche Tyrosinase von Actinomyces chromo-

1) Actinomycesauszug reagiert eine Spur alkalisch, was wahrscheinlich den schlechten Ausfall der Guajakreaktion bedingt.

genes abzutrennen. Es drängte sich dadurch der Verdacht auf, dafs überhaupt keine diffundierende Tyrosinase gebildet werde, sondern dafs die Tyrosinoxydation vorläuffg als Funktion mancher Pilzzellen aufgefafst werden mufs. Dabei blieb unentschieden, ob in der Bakterienzelle ein undiffundierbares besonderes Endoferment vorhanden ist, das sich etwa als Prefssaft gewinnen läfst, oder ob Tyrosinoxydation nur dem lebenden Protoplasma als solchen zukommt.

In Ermangelung einer hydraulischen Presse zur Gewinnung von Aktinomyzesaft suchten wir folgendermafsen die Frage zu fördern.

Die in der Kartoffel vorhandene Tyrosinase wird, wie oben gezeigt, auch durch längere Chloroformbehandlung nicht in ihrer Wirkung gestört. War also eine Tyrosinase in den Aktinomyzekulturen vorhanden, so mufste sie auch nach Abtötung der Zellen mit Chloroform deutlich sein. — War sie nicht vorhanden, so durften die mit Chloroform abgetöteten Rasen keine Reaktion geben.

Der mehrfach angestellt Versuch lehrte: Frische lebendige Partikel von Aktinomyzesrasen umgeben sich prompt (in 24 h) mit einem braun-schwarzen Hof auf 1 ‰ Tyrosinagar. Mit Chloroform abgetötete Rasen bilden keine Spur einer Braunfärbung. Durch besondere Versuche überzeugten wir uns, dafs die Aktinomyzesrasen in 24 Stunden in Chloroform abgetötet waren. Es scheint also auch nach diesem Versuch keine diffundierbare Tyrosinase zu existieren, sondern die Braunfärbung entweder einer nur intrazellulär vorhandenen Oxydase oder einer Oxydationswirkung der lebenden Pilzzelle ihre Existenz zu verdanken — im Gegensatz zur Kartoffel.

Unsere Resultate stimmen recht gut zu denen Gessards an seiner melanogenen Varietät des Bacterium pyocyaneum. Auch dieser Organismus bildet Tyrosin und scheinbar Tyrosinase, es wollte aber auch hier eine Abtrennung der Tyrosinase nicht gelingen.

Unsere Ergebnisse berechtigen zu folgenden Schlüssen:

1. Tyrosinasen sind im Pflanzenreich ziemlich weit verbreitet.
2. Besonders auffallend ist der hohe Tyrosinasegehalt der Kleie gegenüber dem fehlenden Tyrosinasegehalt des Mehls.
3. In neuen Kartoffeln (Juli) konnten wir die inneren Schichten nicht tyrosinaseärmer finden, als die äufseren.
4. Chloroform stört die Tyrosinasewirkung nicht, dagegen stark Cyankalium, absolut die Kochhitze.
5. Auszüge aus Kartoffeln, welche Tyrosinase enthielten, geben stets auch Guajakbläuung und Aloërötung.
6. Es gibt eine Reihe von Mikroorganismen (Bacterium phosphorescens, Bacterium putidum und Actinomyces chromogenes), welche aus Tyrosin einen braunschwarzen Farbstoff bilden.
7. Actinomyces chromogenes bildet auch auf eiweifs- und tyrosinfreien Nährböden ein wenig braunes Pigment, er vermag also einen dem Tyrosin nahestehenden Körper selbst zu bilden und dann zu oxydieren.
8. Bis zu einem ziemlich starken Gehalt an Tyrosin steigt die Verfärbung mit dem Tyrosingehalt.
9. Es gibt Rassen von Actinomyces chromogenes, welche keine Tyrosinase und kein Tyrosin bilden. Die beiden farblosen Stämme, die wir untersuchten, bilden gleichzeitig kein Tyrosin und keine Tyrosinase.
10. Zuckerzusatz ist ohne Einflufs auf die Tyrosin- oder Tyrosinasebildung.
11. Die 3 obengenannten Organismen verhalten sich so, als ob sie Tyrosinase bildeten.
12. Es läfst sich aber keine Tyrosinase durch Lösungsmittel von Actinomyces chromogenes abtrennen, im Gegenteil es macht den Eindruck, als ob die Oxydation des Tyrosins in der lebenden Zelle stattfände und erst das Oxydationsprodukt nach aufsen diffundierte.
13. Gewisse Mengen eines aloërötenden aber nur zweifelhafte Spuren eines guajakbläuenden Körpers (Oxydase) sind durch Glyzerin und Wasser den Actinomyzeskulturen

zu entziehen. Tonzellfiltrate sind wirkungslos. Mit Alkohol ist es nur sehr unvollkommen gelungen, diese Fermente niederzuschlagen und sie in Wasser wieder zu lösen.

Aus Kartoffeln und Weizenkleie läfst sich ein durch Papier filtrierbares Fermentgemische extrahieren, das Aloëharz rötet, Guajak bläut, Tyrosin bräunt. Das Tonzellfiltrat davon gibt neben Diastasereaktion noch Guajakreaktion, keine Tyrosinreaktion.

Nachschrift: Zu ähnlichen Resultaten wie wir scheint auch Carbone gekommen zu sein. Doch fand er nur in alten Cholerakulturen eine braune Farbe, wenn er Nährboden Tyrosin zusetzte. Die Tyrosinase schien auch intrazellular. Interessant ist, dafs Carbone bei seinem Bacterium pyocyaneum eine Steigerung »des Farbstoffs und des Pyocyanius« fand bei Zusatz von Tyrosin. Wir fanden, wie oben bemerkt, geradezu die Fluoreszenz geschwächt. Umgekehrt zeigte im Gegensatz zu Carbones Erfahrungen unser Stamm von Bacterium prodigiosum eine Förderung seiner Farbstoffbildung und der von Carbone nicht. Vgl. Carbone Rendiconti d'Instituto Lombardo, 1906. Referat in Zentralblatt für Bakteriologie, Landwirtschaftlicher Teil. 29. X. 07. Bd. XIX., Nr. 19/20.

Versuche über die chemische Natur der hämolytischen Immunkörper.

Von

Dr. **Kurt Meyer,**
I. Assistenten des Instituts.

(Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Strafsburg. Direktor: Prof. Dr. Forster.)

Gegenüber den vielen Untersuchungen über die verschiedensten funktionellen Eigenschaften der Immunkörper ist die Zahl der Arbeiten über ihre chemische Natur und vor allem deren Ergebnis verschwindend gering. Die Erklärung hierfür liegt auf der Hand. Es handelt sich um Körper von grofser Wirksamkeit, die nur einen kleinen Bruchteil der Substanzgemische bilden, mit denen man es bei den Immunseren zu tun hat und deren Isolierung daher grofsen Schwierigkeiten begegnet.

Da einstweilen die Konstitution der Eiweifskörper in ihren struktuellen Einzelheiten noch nicht aufgeklärt ist, während die chemische Struktur der anderen Bestandteile des tierischen Organismus zum gröfsten Teile bekannt ist, so ist es begreiflich, dafs man chemisch nicht näher charakterisierbaren Stoffe, so vor allem die Fermente und die Immunstoffe, der Kategorie der Eiweifskörper einzureihen geneigt war. Da ferner die Immunsubstanzen nur in Gesellschaft von Eiweifskörpern vorkommen, so lag es nahe, dafs man die Methoden, die sich bei deren Trennung als fruchtbar erwiesen hatten, auch auf die Isolierung der Immunkörper übertrug.

Nachdem bereits früher verschiedene Autoren, von denen hier nur Pfeiffer und Proskauer[1]) genannt seien, teils die Fällung mit einzelnen Neutralsalzen, teils auch die Dialyse zur Isolierung der Immunkörper herangezogen hatten, war es zuerst E. P. Pick[2]), der in eingehenden Untersuchungen die Verteilung einer grofsen Zahl von Immunkörpern auf die einzelnen durch fraktionierte Ammonsulfatfällung darstellbaren Fraktionen des Blutserums bei verschiedenen Tierarten untersuchte. Er kam zu dem Ergebnis, dafs bei Ziegen und Kaninchen die meisten Immunkörper (Diphtherieantitoxin, Cholera- und Typhusagglutinnik und Cynni) mit dem Euglobulin, beim Pferde dagegen erst mit dem Pseudoglobulin ausgefällt werden. Nur das Choleralysin ist auch beim Pferde in der Euglobulinfraktion enthalten.

A. Wolff[3]) konnte bei einer Nachprüfung dieser Versuche Picks Angaben nicht bestätigen. Er fand vielmehr bei seinen Versuchen mit Choleralysinen, dafs in den Globulinniederschlag nur etwa die Hälfte der Immunkörper eingeht, während der Rest in der Albuminfraktion bleibt, hier aber unter der Einwirkung des Ammonsulfats bald zerstört wird und so sich dem Nachweis entzieht. Innerhalb der Globulinfraktionen soll auch nicht nur eine bestimmte den Immunkörper enthalten; dieser soll sich vielmehr auf alle Fraktionen ungefähr proportional ihrer Menge verteilen. Auf Grund dieser Ergebnisse neigt Wolff zu der Annahme, dafs die Immunkörper bei der Ammonsulfatfällung mechanisch mit niedergerissen werden und nicht von vornherein an bestimmte Fraktionen des Blutserums gebunden sind.

Untersuchungen über die haemolytischen Immunkörper liegen bisher nur in ganz geringer Zahl vor, obwohl gerade bei ihnen die durchaus notwendige quantitative Kontrolle der Isolierung sich besonders leicht erreichen läfst.

Landsteiner[4]) fand die Haemolysine des Normalserums sowohl im Globulin- wie im Albuminanteil.

1) Pfeiffer u. Proskauer, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 19, S. 191. 1896.
2) E. P. Pick, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Patholog., Bd. 1, S. 351. 1902.
3) A. Wolff, Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Bd. 33, S. 703. 1903.
4) Landsteiner, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 27, S. 357. 1900.

Fuhrmann[1]) untersuchte die durch Ammonsulfatfällung gewonnenen Fraktionen eines Rinderblutimmunserums und fand die Fibrino-Euglobulinfraktion schwach, die Pseudoglobulinfraktion stark haemolytisch wirksam; im Albuminanteil war haemolytischer Ambozepter nicht vorhanden. Fuhrmann begnügte sich mit dem einfachen Nachweis der Haemolyse, ohne ihre Grenzwerte zu bestimmen, verzichtete also auf eine quantitative Analyse.

Schliefslich sind noch Versuche von Clarence Quinan[2]) zu erwähnen, die durch Dialyse und nachherige Einleitung von Kohlendioxyd die einzelnen Fraktionen des Blutserums darstellte. Ihr gelang nach vier- bis fünftägiger Dialyse der Nachweis des Haemolysins in keiner einzigen Fraktion, aber auch nicht in der Dialysierungsflüssigkeit; es war also wohl bei der Dialyse zerstört worden.

In jüngster Zeit hat v. Liebermann[3]) Untersuchungen veröffentlicht, deren Ergebnisse ihm dafür zu sprechen schienen, dafs die haemolytischen Immunkörper als Säuren oder Säurengemenge aufzufassen seien.

Wie man sieht, sind die bisher bekannten Tatsachen über die Natur der Haemolysine sehr spärlich, weitere Versuche auf diesem Gebiete schienen daher berechtigt.

I.

Da in neuerer Zeit dem haemolytischen Vermögen der Lipoide vermehrte Aufmerksamkeit geschenkt wird, wobei ich nur an die Untersuchungen von Noguchi[4]), Faust und Tallquist[5])

---

1) Fuhrmann, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 3, S. 417. 1903.

2) Clarence Quinan, Ebenda, Bd. 5, S. 95. 1904.

3) v. Liebermann, Biochemische Zeitschr., Bd. 4, S. 25. Archiv für Hygiene, Bd. 62, S. 277. 1907.

4) Noguchi, Journ. of exp. medic., Bd. 8, S. 1. 1906.

5) Faust u. Tallqvist, Archiv f. experim. Patholog., Bd. 57, S. 370. 1907.

und Ehrlich und Landsteiner[1]) erinnern möchte, so untersuchte ich zunächst, ob sich Anhaltspunkte für die Lipoidnatur auch der Immunhaemolysine gewinnen liefsen.

Ich ging bei meinen Versuchen von einem im Vacuum eingetrockneten Hammelblut-Kaninchenimmunserum aus, von dem 0,05 mg aufgelöst in 1 ccm 0,85% NaCl-Lösung, bei Zusatz von 0,04 ccm frischen Meerschweinchenserums 1 ccm 5% Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung eben komplett lösten.

Gehört der haemolytische Immunkörper zu den Lipoiden, so mufs er sich mit den gewöhnlichen Fettlösungsmitteln extrahieren lassen. Auf diese Fragestellung beziehen sich meine ersten Versuche.

Je 0,1 g Serum wurden mit je 5 ccm 50% und 95% Alkohol verrieben und 2 Stunden bei 37° gelassen. Hiernach wurde zentrifugiert, der Bodensatz mit Alkohol gewaschen und er sowohl wie die klare Flüssigkeit auf haemolytisches Vermögen untersucht. Der Rückstand löste sich in NaCl-Lösung zum gröfsten Teile nicht wieder auf. Die Flüssigkeit war unwirksam, ebenso der alkoholische Auszug.

Der haemolytische Immunkörper ist also auch in verdünntem Alkohol nicht löslich, und wird durch ihn so verändert, dafs er in Wasser unlöslich wird.

Es wurden nunmehr je 0,1 g staubfein zerriebenes Serum mit Äther, Azeton, Chloroform und Benzol 8 Stunden im Soxlethschen Apparate extrahiert. Bei der Auflösung der Rückstände nach Beendigung der Extraktion in je 10 ccm NaCl-Lösung zeigte sich, dafs die mit Azeton und Benzol behandelten Pulver nur teilweise wieder in Lösung gingen, während die mit Äther und Chloroform extrahierten Proben sich bis auf Spuren lösten. Die fettigen Extrakte lösten sich nur teilweise in NaCl-Lösung (10 ccm). Nachstehend das Ergebnis der Prüfung auf haemolytische Wirksamkeit (Tab. I).

1) Landsteiner u. Ehrlich, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 45, S. 247.

Tabelle I.

Je 0,1 g Serum extrahiert mit							
Äther				Azeton			
Extrakt in 10 ccm NaCl-Lösung		Rückstand in 10 ccm NaCl-Lösung		Extrakt in 10 ccm NaCl-Lösung		Rückstand in 10 ccm NaCl-Lösung	
1,0 ccm	0			1,0 ccm	0		
0,5 »	0			0,5 »	0		
0,1 »	0	0,1 »	k. H	0,1 »	0	0,1 »	k. H
		0,05 »	k. H			0.05 »	k. H
		0,02 »	k. H			0,02 »	k. H
		0,01 »	k. H			0,01 »	f. k. H
		0,005 »	k. H			0,005 »	i. H
		0,002 »	Spur			0,002 »	0
Chloroform				Benzol			
Extrakt in 10 ccm NaCl-Lösung		Rückstand in 10 ccm NaCl-Lösung		Extrakt in 10 ccm NaCl-Lösung		Rückstand in 10 ccm NaCl-Lösung	
1,0 ccm	0	0,1 ccm	k. H	1,0 ccm	0	0,5 ccm	i. H
0,5 »	0	0,05 »	k. H	0,5 »	0	0,2 »	0
0,1 »	0	0,02 »	k. H	0,1 »	0	0,1 »	0
		0,01 »	k. H				
		0,005 »	k. H				
		0,002 »	Spur				

Alle Proben wurden mit 0,85 % NaCl-Lösung auf gleiches Volumen gebracht und zu jeder 0,5 ccm Meerschweinchenserum 1 : 10 gefügt. Ablesung nach zweistündigem Aufenthalt im Brutschrank. K. H = komplette Hämolyse; f. k. H = fast k. H; i. H = inkomplette H.

Es war also in den mit Äther und Chloroform extrahierten Seren, die ihre Löslichkeit nicht eingebüfst hatten, die volle Wirksamkeit erhalten geblieben und in den Extrakt nichts von dem haemolytischen Immunkörper hineingegangen. Wenn bei dem mit Azeton und besonders dem mit Benzol behandelten Serum die Wirksamkeit herabgesetzt war, so werden wir diese Erscheinung auf das Unlöslichwerden der Rückstände beziehen dürfen, zumal auch hier in den Extrakten keinerlei haemolytische Wirksamkeit nachzuweisen war.

Da die Möglichkeit gegeben war, dafs der Immunkörper nicht frei im Serum vorhanden sei, sondern an Alkali oder andere basische Stoffe gebunden, so wurde angesäuertes Serum mit

Extraktionsmitteln behandelt. Das Serum wurde zu diesem Zwecke in Wasser gelöst, mit verdünnter Salzsäure bis zur saueren Reaktion versetzt und hierauf im Vacuum über Kaliumhydroxyd bei gewöhnlicher Temperatur eingetrocknet. Durch einen besonderen Versuch überzeugte ich mich davon, dafs es durch dieses Verfahren in seiner Wirksamkeit nicht geschädigt wird; die lösende Minimalmenge betrug nachher wie vorher 0,05 mg. Von diesem Pulver wurden nunmehr je 0,1 g 8 Stunden lang im Soxlethschen Apparat mit Äther und Chloroform extrahiert. Rückstand wie Extrakt wurden in 10 ccm NaCl-Lösung zu lösen gesucht. Die Pulver gingen bei dieser Versuchsreihe zwar nicht ganz vollständig in Lösung; ihr haemolytisches Vermögen war aber nur wenig beeinträchtigt, während die Extrakte, soweit sie sich gelöst hatten, sich auch hier als unwirksam erwiesen (Tab. II).

Tabelle II.

Je 0,1 g angesäuertes Serum extrahiert mit							
Äther				Chloroform			
Extrakt in 10 ccm NaCl-Lösung		Rückstand in 10 ccm NaCl-Lösung		Extrakt in 10 ccm NaCl-Lösung		Rückstand in 10 ccm NaCl-Lösung	
1,0 ccm	0	0,1 ccm	k. H	1,0 ccm	0	0,1 ccm	k. H
0,5 »	0	0,05 »	k. H	0,5 »	0	0,05 »	k. H
0,1 »	0	0,02 »	k. H	0,1 »	0	0,02 »	k. H
		0,01 »	k. H			0,01 »	k. H
		0,005 »	k. H			0,005 »	i. H
		0,002 »	Spur			0,002 »	Spur

Da ein bedeutender Teil der Extrakte sich in NaCl-Lösung nicht löste, so wurden sie in je 1 ccm $^{1}/_{2}$% alkoholischer Kalilauge gelöst und mit NaCl-Lösung die Flüssigkeitsmenge auf 10 ccm gebracht. Ihre Wirksamkeit zeigte sich wie folgt (Tab. III).

Tabelle III.

Äther Extrakt in KaOH gelöst und mit NaCl-Lösung auf 10 ccm gebracht		Chloroform Extrakt in KaOH gelöst und mit NaCl-Lösung auf 10 ccm gebracht	
0,5 ccm	k. H	0,5 ccm	k. H
0,2 »	k. H	0,2 »	k. H
0,1 »	i. H	0,1 »	i. H
0,05 »	0	0,05 »	0

Es schien hiernach zuerst, als ob aus dem angesäuerten Serum haemolytische Substanz in die Extrakte übergegangen sei. Bei weiterer Untersuchung zeigte sich aber, dafs auch gegenüber Pferdeblut haemolytische Wirksamkeit bestand. Ferner erfolgte die Haemolyse auch ohne Komplementzusatz, ja dann sogar bei noch geringeren Dosen. Dieses zuerst paradox erscheinende Verhalten findet leicht eine Erklärung, wenn man die Haemolyse auf die in den Extrakten nach Auflösung in Kalilauge jedenfalls vorhandenen Seifen bezieht, bei denen die Hemmung durch die Eiweifskörper des Blutserums, hier also des als Komplement verwandten Meerschweinchenserums, aus den Arbeiten v. Liebermanns[1]) und Noguchis[2]) bekannt ist.

Es ergibt sich also aus den angeführten Versuchen, dafs sich das Haemolysin mit den Fettlösungsmitteln auf keine Weise aus dem Serum extrahieren läfst. Hätten wir den entgegengesetzten Befund erhoben, so wäre bei dessen Verwertung gewifs grofse Vorsicht angebracht gewesen; denn wir wissen, wie hartnäckig eiweifsartige Körper den Lipoiden anhaften und mit ihnen in alle Lösungsmittel hineingehen. Das negative Ergebnis aber dürfen wir durchaus verwerten und es für ausgeschlossen erklären, dafs die haemolytischen Immunkörper zu den Lipoiden gehören.

Allerdings könnte man noch an die Möglichkeit denken, dafs es sich um Lipoid-Eiweifsverbindungen handle. Über die Natur dieser Körper wissen wir heute noch sehr wenig. Da die Eiweifskomponente aber bei ihrem Bau jedenfalls eine wichtige Stelle einnimmt und ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften bestimmt, so dürfen wir sie wohl ebenso wie die Nukleoproteide, das Haemoglobin u. s. w. zu den zusammengesetzten Proteiden, also Eiweifskörpern im weiteren Sinne rechnen.

II.

Nachdem so der Lipoidcharakter des Haemolysins ausgeschlossen war und da ferner an eine Kohlehydratnatur der Im-

1) v. Liebermann, a. a. O.

2) Noguchi, Biochemische Zeitschrift, Bd. 6, S. 327. 1907.

munstoffe nicht gedacht werden konnte, so wandte ich die bei der Trennung der Eiweifskörper geübten Methoden an und begann mit Versuchen über die Verteilung des Haemolysins zwischen den einzelnen Fraktionen des Blutserums.

Bevor ich über meine Ergebnisse berichte, mufs ich kurz auf die Einteilung der Bluteiweifskörper eingehen.

Über die Unterscheidung von Albuminen und Globulinen besteht keine Meinungsverschiedenheit; die Halbsättigung mit Ammonsulfat bestimmt die Grenze. Weniger klar aber liegen die Verhältnisse bei der weiteren Einteilung der Globulinfraktion. Die historische Entwickelung läfst die hier bestehende Unsicherheit verständlich erscheinen.

Während man früher, hauptsächlich auf Grund der Untersuchungen Panums und Kühnes, als wesentlichen Unterschied zwischen Globulinen und Albumin die Unlöslichkeit der ersten in destilliertem Wasser ansah und sie dementsprechend durch Dialyse oder starke Verdünnung des Serums darstellte, wies Hammarsten[1]) zuerst nach, dafs bei dem Verdünnungsverfahren ein erheblicher Teil des Globulins — von ihm als Paraglobulin bezeichnet —, in Lösung bleibt, aber durch Sättigung mit Magnesiumsulfat ausgesalzen werden kann. Unter Behandlung mit Kochsalz sollte dieser Körper typische Globulineigenschaften, also auch Unlöslichkeit in Wasser annehmen und so seinen Globulincharakter zu erkennen geben.

Später zeigte Marcus[2]), dafs ein erheblicher Teil des Globulins bei der Dialyse unter keinen Umständen ausfällt, auch nach vorausgegangener Isolierung nicht; er bezeichnete ihn als lösliches Globulin.

Fuld und Spiro[3]) wiesen gleichzeitig nach, dafs sich bei der Aussalzung des Serums mit Ammonsulfat eine zwischen 28 und 33% und eine zwischen 34 und 48% Salzgehalt ausfällbare Fraktion gewinnen läfst, die durch physikalische und chemische

1) Hammarsten, Pflügers Archiv, Bd. 17, S. 413. 1878. Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 8, S. 467. 1884.

2) Marcus, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 28, S. 559. 1899.

3) Fuld und Spiro, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 31, S. 132. 1900.

Eigenschaften von einander unterschieden sind; nach einem Vorschlage Hofmeisters bezeichneten sie jene als Euglobulin, diese als Pseudoglobulin. Sie nahmen dabei an, dafs das Pseudoglobulin dem löslichen Globulin entspricht, während das Euglobulin mit dem bei der Dialyse ausfallenden Körper identisch sei. Später stellte Spiro mit Torges[1]) fest, dafs das Globulin sich durch Ammonsulfatfällung in mindestens drei Fraktionen zerlegen läfst.

Freund und Joachim[2]) endlich fanden sowohl im Euglobulin wie im Pseudoglobulin je einen wasserlöslichen und einen wasserunlöslichen Anteil und nahmen daher das Vorkommen von vier verschiedenen Globulinen im Serum an.

Aus der Gesamtheit dieser zum Teil sich widersprechenden Untersuchungen scheint sich jedenfalls das zu ergeben, dafs durch die Ammonsulfatfällung einerseits und durch die Dialyse anderseits nicht identische Fraktionen gewonnen werden.

Bei meinen Versuchen hatte ich ein doppeltes Ziel im Auge, einmal festzustellen, ob der haemolytische Immunkörper an eine bestimmte, durch eine der oben genannten Methoden zu isolierende Fraktion des Serums gebunden ist, sodann ihn in geeigneter Weise anzureichern und so seiner Reindarstellung näher zu kommen.

Zunächst wandte ich die Dialyse an und zwar liefs ich je 0,1 g des oben beschriebenen Serumpulvers gelöst in 10 ccm NaCl-Lösung in Schilfschläuchen 24 Stunden sowohl gegen häufig gewechseltes destilliertes Wasser wie gegen isotonische (7,8%) Rohrzuckerlösung diffundieren. Die Dialysierungsflüssigkeit wurde hierbei zwar nicht völlig salzfrei, gab aber mit Baryumchlorid nur schwache Trübung, so dafs die Ausfällung des wasserunlöslichen Globulins als nahezu vollständig anzusehen war. Ich dehnte die Dialyse nicht länger aus, da allmählich eine Abschwächung des haemolytischen Vermögens eintritt. Das ausgefallene Globulin wurde in 10 ccm NaCl-Lösung gelöst und ebenso wie das Dialysat auf haemolytische Wirksamkeit untersucht.

2) Porges und Spiro, Hofmeisters Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, Bd. 3, S. 277. 1903.

3) Freund u. Joachim, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 36, S. 407. 1902.

Wie aus folgenden Tabellen hervorgeht, war das haemolytische Vermögen fast quantitativ in den Dialysierungsflüssigkeiten enthalten, während sich die Globulinniederschläge als unwirksam erwiesen (Tab. IV).

Tabelle IV.

Je 0,1 g Serum	gegen Zuckerlösung dialysiert		gegen destilliertes Wasser dialysiert	
	Niederschlag	Dialysat	Niederschlag	Dialysat
0,1 ccm	0	k. H.	0	k. H.
0,05 »	0	k. H.	0	k. H.
0,02 »	0	k. H.	0	k. H.
0,01 »	0	k. H.	0	k. H.
0,005 »	0	f. k. H.	0	f. k. H.
0,002 »	0	i. H.	0	i. H.

Aus diesen Versuchen schien sich also zu ergeben, dafs das Haemolysin mit dem wasserunlöslichen Globulinanteil nicht ausfällt, sondern zur vereinigten wasserlöslichen Globulin- und Albuminfraktion geht. Dafs dem jedoch nicht stets so ist, zeigte sich, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, als der Dialyseversuch mit einem anderen nicht eingetrockneten Serum wiederholt wurde (Tab. V).

Tabelle V.

3 ccm Serum (Minimaldosis: 0,001 ccm) 48 Stunden gegen H_2O im Schilfschlauch dialysiert. Niederschlag in Na Cl-Lösung gelöst. Mengen auf das Ausgangsserum berechnet.

	Niederschlag	Dialysat
0,1 ccm	k. H.	k. H.
0,05	k. H.	k. H.
0,02	k. H.	k. H.
0,01	k. H.	k. H.
0,005	i. H.	k. H.
0,002	0	f. k. H.
0,001	0	i. H.

Es war also bei diesem Versuche auch in den Globulinniederschlag Haemolysin übergegangen und zwar in einer Menge von 20—25% des Gesamtquantums.

Wie war nun die Differenz zwischen den beiden Dialyseversuchen zu erklären? Zunächst erscheint es wohl möglich, dafs verschiedene Sera sich nicht vollkommen gleich verhalten, dafs entweder Unterschiede in der bei der Dialyse ausfallenden Globulinmenge vorhanden sind oder dafs der Immunkörper nicht stets an die gleichen Fraktionen gebunden ist, Unterschiede, wie sie auch E. P. Pick[1]) wenigstens bei Seren verschiedener Tierarten beobachtet hat. Sodann aber konnte die Differenz auch dadurch bedingt sein, dafs ich beim ersten Versuch mit einem eingetrockneten, beim zweiten dagegen mit einem frischen Serum arbeitete. Um den Einflufs des Eintrocknens festzustellen, liefs ich auch das zweite Serum im Vacuum eindunsten und unterwarf es, nachdem es in der entsprechenden Menge Wasser gelöst war, wiederum der Dialyse. Ich mufs bemerken, dafs das Pulver sich nicht glatt löste, sondern dafs ein ziemlich erheblicher Rückstand blieb. Auch die Wirksamkeit der Lösung war dementsprechend geringer. Die lösende Minimalmenge betrug jetzt nahezu 0,002 ccm, so dafs der Verlust an aktiver Substanz etwa 30—40% ausmachen mochte. Bei der Dialyse ergab sich nun, dafs der Globulinniederschlag, dessen Menge jetzt auch geringer zu sein schien als beim frischen Serum, nur ganz schwach wirksam war. In NaCl-Lösung gelöst und auf das ursprüngliche Flüssigkeitsvolumen gebracht, zeigten 0,1 ccm nur eine Spur von Haemolyse, während die Dialysenflüssigkeit nahezu die ursprüngliche Wirksamkeit besafs.

Aus diesem Versuche folgt, dafs beim Eintrocknen eines haemolytischen Serums sich die Löslichkeitsverhältnisse des Immunkörpers ändern. Zwei Möglichkeiten sind in dieser Beziehung gegeben. Entweder wird der im frischen Serum bei der Dialyse ausfallende Teil des Immunkörpers beim Eintrocknen unlöslich und bleibt beim Auflösen im Rückstand, — die verminderte Gesamtwirksamkeit des eingetrockneten und wieder gelösten Serums könnte hierfür geltend gemacht werden — oder er verändert sich derart, dafs er nunmehr auch ohne Anwesenheit von Salzen in

1) E. P. Pick, a. a. O.

Wasser löslich wird. Dafs Veränderungen in den Löslichkeitsverhältnissen der Serumeiweifskörper unter verschiedenen Bedingungen eintreten können, ist bekannt; allerdings pflegen diese meist im entgegengesetzten Sinne zu erfolgen, indem Albumin Globulineigenschaften gewinnt, doch ist noch keineswegs erwiesen, dafs der Vorgang immer in dieser Richtung verläuft; vielmehr spricht auch Hammarsten[1]) davon, dafs unlösliches Globulin an der Luft in lösliches übergehen kann.

Wie dem nun sein mag; aus dem zweiten Versuche geht jedenfalls hervor, dafs sich durch die Dialyse eine merkliche Anreicherung des Immunkörpers in bestimmten Fraktionen nicht erreichen läfst.

Ich wandte nunmehr die fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat auf das Immunserum an, und zwar beschränkte ich mich auf Drittel- und Halbsättigung. Untersucht wurde das frische Serum, dessen eben lösende Menge 0,001 ccm betrug. Die nachfolgende Tabelle (Tab. VI) zeigt das Ergebnis.

Tabelle VI.

2 ccm Immunserum mit H_2O auf 4 ccm gebracht. Hierzu 2 ccm gesättigte Ammonsulfatlösung. Niederschlag abzentrifugiert und gewaschen = Euglobulin. Zur Flüssigkeit weitere 2 ccm Ammonsulfatlösung. Niederschlag wie oben behandelt = Pseudoglobulin. Flüssigkeit = Albumin. Mengen auf das Ausgangsserum berechnet.

Euglobulin		Pseudoglobulin		Albumin	
0,1 ccm	k. H.	0,1 ccm	k. H.	0,2 ccm	0
0,05 »	k. H.	0,05 »	k. H.	0,1 »	0
0,02 »	k. H.	0,02 »	k. H.		
0,01 »	f. k. H.	0,01 »	k. H.		
0,005 »	i. H.	0,005 »	k. H.		
0,002 »	Spur	0,002 »	i. H.		
0,001 »	0	0,001 »	Spur		

Der gröfste Teil des Immunkörpers war also in die Pseudoglobulinfraktion übergegangen, aber auch die Euglobulinfraktion erwies sich als recht wirksam, während die Albuminfraktion keinen

1) Hammarsten, Lehrbuch f. physiol. Chemie, 1904, S. 150.

Immunkörper enthielt. Natürlich wurde der Ammonsulfatgehalt durch Kontrolversuche berücksichtigt. Addiert man die Zahlen der Euglobulin- und Pseudoglobulinfraktion zusammen, so ergibt sich anscheinend nicht ganz die Ausgangsmenge. Hieraus mufs aber nicht auf die Zerstörung eines entsprechend grofsen Teils des Haemolysins geschlossen werden. Die Differenz kann vielmehr auch durch die Fehler der Methode bedingt sein. In der Technik der Haemolysinuntersuchung ist es begründet, vor allem in der ungleichen Resistenz der einzelnen Blutkörperchen, dafs wir bei der Austitrierung eines Serums kaum nähere Werte auf ihre Wirksamkeit prüfen können als jeweils die Hälfte des vorhergehenden. Wir vermögen daher auch den Punkt der vollständigen Haemolyse nicht genau zu bestimmen, sondern können ihn nur zwischen zwei Grenzwerte verweisen. Ob er näher dem oberen oder unteren liegt, entzieht sich unserer Beurteilung.

Wenn wir also auch nicht ganz genau die Verteilung des Haemolysins zwischen Euglobulin und Pseudoglobulinfraktion zu bestimmen vermögen, so können wir doch aussagen, dafs die Pseudoglobulinfraktion etwa die doppelte Wirksamkeit besafs als die Euglobulinfraktion; dort betrug der Wert für die komplette Haemolyse 0,01 ccm, hier 0,005 ccm.

Da bei der Ausfällung mit Ammonsulfat immer der Einwand erhoben werden kann, dafs das Übergehen einer Substanz in den Niederschlag durch ein mechanisches Niederreifsen bedingt sei, so suchte ich dem in weiteren Versuchen dadurch vorzubeugen, dafs ich eingetrocknetes Serum mit Ammonsulfatlösungen verschiedener Konzentration sorgfältig verrieb, und die Emulsion 2 Stunden bei 37° liefs. Dann wurde vom Ungelösten abfiltriert und die haemolytische Wirksamkeit von Filtrat und Rückstand bestimmt.

Zuerst verwandte ich 33% Ammonsulfatlösung, die das Albumin und Pseudoglobulin lösen, das Euglobulin dagegen zurücklassen mufs. 0,1 g des staubfeinen Serumpulvers, dessen eben 1 ccm Blutaufschwemmung lösende Menge 0,05 mg betrug, wurden mit 10 ccm Salzlösung verrieben. Der Rückstand wurde in 10 ccm NaCl-Lösung gelöst. Nachstehend die Resultate (Tab. VII).

Tabelle VII.

0,1 g Serum in 10 ccm 33 proz. Ammonsulfatlösung gelöst		Rückstand in 10 ccm NaCl-Lösung gelöst
0,1 ccm	k. H.	k. H.
0,05 »	k. H.	k. H.
0,02 »	k. H.	k. H.
0,01 »	k. H.	i. H.
0,005 »	i. H.	0

Auch bei diesem Verfahren zeigten also beide Fraktionen haemolytische Wirksamkeit und zwar in dem gleichen Verhältnis wie bei dem Fällungsversuch. Die komplett lösende Dosis war auch jetzt bei der Euglobulinfraktion doppelt so grofs wie bei der Pseudoglobulin- und Albuminfraktion. Natürlich gelten hier die gleichen Überlegungen betreffs der Beurteilung der Werte wie bei der früheren Methode.

Ganz analog wurden 0,1 g Serum mit 10 ccm 50% Ammonsulfatlösung verrieben und die Prüfung auf haemolytische Wirksamkeit in gleicher Weise wie oben vorgenommen (Tab. VIII).

Tabelle VIII.

0,1 g Serum in 50 proz. Ammonsulfatlösung gelöst		Rückstand in 10 ccm NaCl-Lösung gelöst
0,01 ccm	0	k. H.
0,05 »	0	k. H.
0,02 »	0	k. H.
0,01 »	0	k. H.
0,005 »	0	f. k. H.
0,002 »	0	i. H.

Wie die Tabelle zeigt war das Haemolysin quantitativ im Rückstand geblieben. In der Albuminfraktion ist also auch nach dieser Methode kein haemolytischer Immunkörper nachweisbar.

Fassen wir noch einmal die bei der Fraktionierung des Immunserums gewonnenen Ergebnisse zusammen, so ist zunächst sicher, dafs die Albuminfraktion frei von haemolytischem Immunkörper ist. Was die Verteilung auf die Globuline betrifft, so

haben wir gesehen, dafs weder bei der Dialyse noch bei der Ammonsulfatfällung sich eine weitere Beschränkung des Immunkörpers auf einzelne Fraktionen erreichen läfst. Auch eine Anreicherung des Immunkörpers in bestimmten Fraktionen in dem Sinne, dafs seine Menge im Verhältnis zum Eiweifsgehalt steigt, scheint nicht stattzufinden. Wenn auch wegen Materialmangels keine vergleichende Untersuchungen zwischen haemolytischer Wirksamkeit und Eiweifsgehalt der einzelnen Fraktionen vorgenommen werden konnten, so können wir doch nach den in der Literatur vorliegenden Angaben über die Menge der verschiedenen Globuline annehmen, dafs Eiweifsgehalt und haemolytisches Vermögen der einzelnen Globulinfraktionen ungefähr parallel gehen.

Es mag zunächst auffällig erscheinen, dafs der haemolytische Immunkörper anscheinend an verschiedene Eiweifskörper, wie sie die einzelnen Globuline darstellen sollen, gebunden ist und man könnte daran denken, dafs das Haemolysin kein einheitlicher Körper ist, sondern aus mehreren etwas differenten Bestandteilen besteht, eine Annahme, die nach den interessanten Untersuchungen P. Th. Müllers[1]) über verschiedene Aviditätsstufen innerhalb der bisher als einheitlich geltenden Haemagglutinine nahe liegt und einer Prüfung wert ist, Wir dürfen anderseits aber auch nicht vergessen, dafs zwingende Beweise dafür, dafs die einzelnen Globuline wirklich chemisch verschiedene Körper sind, noch nicht erbracht sind, und die gleichmäfsige Verteilung der Immunkörper über die verschiedenen Globulinfraktionen könnte daher auch in deren Einheitlichkeit ihre Erklärung finden.

Aber selbst wenn das Haemolysin an eine einzelne chemische Fraktion des Serums gebunden sein sollte, so wäre damit natürlich noch nicht bewiesen, dafs es nun selbst z. B. ein bestimmtes Globulin sei. Es könnte sich um eine Adsorptionsverbindung zwischen ihm und dem Eiweifskörper handeln oder das betreffende Globulin könnte als Schutzkolloid den in reinem Zustand anderen Fällungsgesetzen folgenden Immunkörper in Lösung halten. Hin-

1) P. Th. Müller, Arch. f. Hyg., Bd. 64, S. 62 1907. Zentralblatt f. Bakteriol., Abteil. I, Orig. Bd. 76, S. 248, 1908.

sichtlich dessen Eiweifsnatur könnte weder im einen noch im anderen Sinne etwas gefolgert werden. Das Ziel solcher Fraktionierungen könnte nur sein, ihn in bestimmten Serumanteilen anzureichern und so seiner Reindarstellung näher zu kommen.

III.

In weiteren Versuchen wandte ich Methoden, die sich bei der Darstellung anderer wirksamer Substanzen, so der Fermente, aus Eiweifsgemischen bewährt hatten, auf haemolytisches Serum an. Bezüglich der hierbei und bei den späteren Versuchen gewonnenen Ergebnissen mufs ich bemerken, dafs ich die Resultate in den ersten Verdünnungen nicht berücksichtigte, um alle Fehler, die durch unspezifische Hemmungen oder durch Ungenauigkeiten bei der Wiederherstellung der Isotonie bedingt sein konnten, auszuschalten. Es konnten daher geringe Wirksamkeitsgrade, einigen Prozenten der Ausgangsmenge entsprechend, der Beobachtung entgehen. Da aber auf dem vorliegenden Gebiete überhaupt nur gröbere Ausschläge verwertbar sind, scheint mir jene Unterlassung ohne Belang zu sein.

Zunächst bediente ich mich der von Jacoby[1]) und Rosell[2]) ausgearbeiteten Methode der Fällung mit Uranylacetat. Ich folgte ganz ihren Vorschriften, indem ich das aufs Zehnfache verdünnte mit Natriumbikarbonat alkalisch gemachte Serum mit Uranylacetat versetzte, solange noch ein Niederschlag entstand. Die Flüssigkeit war hierbei unwirksam geworden. Aber auch aus dem Niederschlag konnte durch Extraktion mit verdünnter Natriumkarbonatlösung kein Haemolysin gewonnen werden. Der Immunkörper hatte also durch die Behandlung mit Uranylacetat seine Wirksamkeit verloren.

Hierauf suchte ich eine neuerdings von L. Michaelis[3]) gemachte Beobachtung nutzbar zu machen. Michaelis hatte unreine Invertinlösungen der Einwirkung positiver und negativer

1) M. Jacoby, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 30, S. 135. 1900.

2) Rosell, Über Bedeutung und Vorkommen der intrazellularen Fermente. Inaug.-Diss., Strafsburg, 1901.

3) L. Michaelis, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, S. 488. 1907.

Kolloide ausgesetzt und hatte gefunden, dafs das Invertin zwar durch elektropositive nicht aber durch elektronegative Kolloide fällbar ist und sich so von Eiweifs, das auch durch elektronegative Kolloide niedergeschlagen wird, trennen läfst. Ich übertrug diese Methode auf das haemolytische Serum und behandelte es mit elektronegativen (Kaolin, Mastix, Arsentrisulfid) und mit elektropositiven (Eisenhydroxyd) Kolloiden resp. Suspensionen. Das Haemolysin wurde sowohl durch das elektronegative Kaolin wie das elektropositive Eisenhydroxyd ausgefällt, war aber im Niederschlage nicht nachweisbar, also unwirksam geworden. Mit Arsentrisulfid und Mastix gelang es mir auch bei saurer Reaktion und bei Zusatz von Magnesium- und Ammoniumsulfat nicht, die Lösung eiweifsfrei zu erhalten. Ich kann daher auch der Tatsache, dafs die Lösungen noch starke haemolytische Wirksamkeit besafsen, keine Bedeutung zulegen. Vergleichende Bestimmungen zwischen Eiweifsgehalt und Wirksamkeit konnte ich wegen Materialmangels nicht ausführen. Immerhin erscheint mir eine weitere Verfolgung dieser Versuche wünschenswert, da sich auf diesem Wege vielleicht eine Anreicherung des Immunkörpers erzielen läfst.

Aus diesen Versuchen irgend welche Schlüsse auf die elektrische Ladung des Haemolysins zu ziehen, dürfte kaum möglich sein, so lange nicht Aufklärung über ein Verhältnis zu den mit ihm ausfallenden Eiweifskörpern geschaffen ist.

IV.

In analoger Weise, wie ich früher aus dem Verhalten des Immunkörpers gegenüber verschiedenen Lösungsmitteln indirekte Schlüsse gezogen hatte, suchte ich nunmehr durch sein Verhalten gegenüber chemischen Eingriffen etwas über seine Natur zu erfahren. Es war von vornherein klar, dafs diese Versuche nur verwertet werden durften, wenn sie auf das Fehlen bestimmter Gruppen hinwiesen. Der umgekehrte Schlufs auf die Anwesenheit solcher Gruppen im Immunkörper war nicht zulässig, da der positive Ausfall der Reaktion ja durch Beimengungen bedingt sein konnte.

Ich nahm folgende Eingriffe vor: Oxydation mit Kaliumpermanganat und Wasserstoffsuperoxyd (3%), Reduktion mit Natriumamalgam, Einwirkung von salpetriger Säure. Verwendet wurde jedesmal 1 ccm Serum, dessen eben lösende Menge 0,001 ccm betrug. Hierzu kamen jeweils 1 ccm $\frac{n}{10}$ Permanganatlösung + 1 ccm $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure, 2 ccm 3% Wasserstoffsuperoxyd, 0,3 g 4% Natriumamalgam + 5 ccm $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure, 2 ccm $\frac{n}{10}$ Natriumnitritlösung + 2 ccm $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure, endlich als Kontrolle 2 ccm $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure allein. Alle Flüssigkeiten wurden auf 10 ccm mit NaCl-Lösung aufgefüllt und 15 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Die Schwefelsäure wurde neutralisiert und jede Lösung nach Möglichkeit isotonisch gemacht. Nachstehend die Ergebnisse (Tab. IX).

Tabelle IX.

	Serum behandelt mit				
	Permanganat	Wasserstoffsuperoxyd	Natriumamalgam	Salpetrige Säure	Schwefelsäure
0,1 ccm	0	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.
0,03 »	0	k. H.	k. H.	i. H.	k. H.
0,01 »	0	k. H.	k. H.	0	k. H.
0,005 »	0	k. H.	i. H.	0	k. H.
0,002 »	0	i. H.	0	0	k. H.
0,001 »	0	i. H.	0	0	k. H.

Aus der Tabelle geht zunächst hervor, dafs Schwefelsäure in der verwendeten Verdünnung wirkungslos ist. Wasserstoffsuperoxyd hatte die Wirksamkeit des Serums nur wenig beeinträchtigt; dafs dies Verhalten wohl nur auf die geringe Konzentration des Peroxyds zurückzuführen war und nicht auf eine Widerstandsfähigkeit des Haemolysins, zeigt das Ergebnis der Permanganatbehandlung. Eine besondere Resistenz gegen oxydierende Substanzen kommt dem Haemolysin also nicht zu.

Bei der Einwirkung des Natriumamalgams war die Wirksamkeit des Serums verhältnismäfsig wenig abgeschwächt wor-

den; sie betrug noch ein Zehntel des ursprünglichen Wertes. Dafs die Menge des verwendeten Natriumamalgams zu gering gewesen sei, ist nicht wahrscheinlich. Es kam etwa ein Teil Natrium auf 10 Teile trockenen Serums, eine Menge, die, nach Analogieen zu schliefsen, zur Reduktion aller reduzierbaren Gruppen und zur Lösung doppelter Bindungen ausreichen mufste. Wenn wir nun eine gewisse Widerstandsfähigkeit des Haemolysins gegenüber dem naszierenden Wasserstoff sehen, so dürfen wir vielleicht mit aller Vorsicht daraus den Schlufs ziehen, dafs leicht reduzierbaren Gruppen oder doppelten Bindungen bei dem Aufbau des Haemolysins keine wesentliche Rolle zukommt.

Was das Ergebnis der Einwirkung von salpetriger Säure betrifft, so hätte aus dem Erhaltenbleiben der Wirksamkeit auf das Fehlen von Aminogruppen geschlossen werden können. Da aber das Haemolysin nahezu ganz zerstört wurde, so fällt diese Möglichkeit fort und es erscheint gleichgültig, ob man den diazotierenden, reduzierenden oder oxydierenden Eigenschaften der salpetrigen Säure die Zerstörungswirkung zuzuschreiben hat.

V.

Schliefslich suchte ich über die Natur des haemolytischen Immunkörpers auch durch sein Verhalten gegenüber Fermenten etwas zu erfahren.

Die Versuche mit Pepsin führten zu keinem Ergebnis, da bei Bruttemperatur Salzsäure für sich in $\frac{n}{50}$-Konzentration in ziemlich kurzer Zeit das Haemolysin zerstört. Bei neutraler Reaktion wird die Wirksamkeit des Serums durch Pepsin nicht merklich geschädigt; wahrscheinlich findet aber auch keine oder nur eine geringfügige Verdauung der Eiweifskörper statt.

Dagegen wurde durch Pankreatin-Rhenania das Serum bei neutraler Reaktion in 24 Stunden völlig unwirksam gemacht. Dieser Befund scheint von Wichtigkeit zu sein. Die fettspaltende Kraft des verwandten Präparates war nur sehr gering, und da die Kohlehydratnatur des Haemolysins von vornherein

auszuschliefsen ist, so darf man wohl aus dem Ergebnis des Verdauungsversuches auf seinen Eiweifscharakter schliefsen. Ob es nun einen einfachen Eiweifskörper darstellt oder ein zusammengesetztes Proteid, bei dem die die Wirksamkeit bedingende Gruppe vielleicht überhaupt nicht Eiweifscharakter besitzt, mufs vorläufig unentschieden bleiben.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen wäre kurz zusammengefafst folgendes:

1. Die Löslichkeitsverhältnisse des haemolytischen Immunkörpers sprechen gegen seinen Lipoidcharakter.
2. Seine Zerstörbarkeit durch Pankreasferment deutet auf seine Eiweifsnatur.
3. Sein Verhalten gegen chemische Reagentien spricht nicht gegen seinen Eiweifscharakter.
4. In seinem amphoteren Verhalten gegenüber elektropositiven und elektronegativen Kolloiden resp. Suspensionen folgt er den Eiweifskörpern.
5. Er ist an den Globulinanteil des Blutserums gebunden; innerhalb dieses ist eine weitere Beschränkung auf einzelne Fraktionen weder durch Dialyse noch durch Ammonsulfatfällung möglich.
6. Beim Eintrocknen ändern sich seine Löslichkeitsverhältnisse.

Strafsburg i. Els., 10. Februar 1908.

Über Bakterienkatalase.

Von

Dr. **August Jorns,**
vorm. Assistenten am Hygienischen Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg. Direktor: Prof. Dr. K. B. Lehmann.)

Vorbemerkung.

Die folgenden Mitteilungen stellen Bruchstücke einer gröfser angelegten Arbeit dar, die aus äufseren Gründen unvollendet bleiben mufste. Auf Rat meines früheren Chefs, Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann, der die Arbeit anregte und sie durch sein stetes Interesse vielfach förderte, unternehme ich es, wenigstens über einige leidlich vollendete Abschnitte kurz zu berichten. Ich hoffe, dafs sie nicht ganz ohne Interesse sind und vielleicht jemandem, der die interessanten Fragen weiter verfolgen will, als Vorarbeit dienen können.

Einleitung.

Während man früher die Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd unter Bildung von freiem Sauerstoff zu zerlegen, als Eigenschaft aller Fermente betrachtete, nimmt man jetzt wohl allgemein an, dafs diese Spaltung durch ein besonderes Ferment hervorgerufen wird, welches im Pflanzen- und Tierreich weit verbreitet vorkommt. Man nennt dieses Ferment Katalase nach Loew[1])

1) Bulletin Departement Agricult. Washington 1900. Zit. nach C. B. L.

oder Superoxydase nach Raudnitz[1]). Dieses Ferment steht weder mit den Oxydationsfermenten noch mit den Reduktionsfermenten in irgendwelcher Beziehung, sondern seine Bedeutung für den Organismus ist bis jetzt noch ziemlich dunkel, wie neben anderen besonders aus den Arbeiten von Chodat und Bach[2]) hervorgeht. Diese Forscher bewiesen auch, dafs die einzige bisher bekannte Eigenschaft dieses Fermentes eben die Zerlegung des Wasserstoffsuperoxydes sei, während alle anderen Peroxyde, die sie daraufhin untersuchten, von der Katalase nicht angegriffen werden. Durch fraktionierte Alkoholfällung gelang es ihnen aus Pflanzen- und Tiergeweben, Senter[3]) aus Blut von Säugetieren das Ferment in physiologischer Reinheit darzustellen.

Über die Katalase der Bakterien weifs man bisher nur sehr wenig. Die Eigenschaft von Bakterienkulturen, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen, ist allerdings im allgemeinen schon seit längerer Zeit bekannt, aber erst in neuerer Zeit wurde die Anwesenheit von Katalase in den Kulturen bestimmter Bakterienarten zwecks Beantwortung der Frage nach der Herkunft der Katalase in der Milch von Seligmann[4]) und in jüngster Zeit von Jensen[5]) nachgewiesen. Letzterer macht auch quantitative Angaben, allerdings mit einer ziemlich rohen Methode.

Ausgehend von anderweitigen Untersuchungen, die mir genauere Kenntnisse über die Katalasebildung der Bakterien zu erfordern schienen, sah ich mich deshalb veranlafst, eingehendere Studien auf diesem Gebiete zu machen, um einen Überblick über die Verbreitung der Bakterien-Katalase zu gewinnen und eine exakte Bestimmungsmethode der Bakterienkatalase auszubilden.

1) Zeitschrift f. Biologie, Bd. 42, S. 91. Zit. nach Oppenheimer, Fermente.

2) Untersuchungen über die Rolle der Peroxyde in der Chemie der Zelle. Eine Reihe von Mitteilungen in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. XXXV u. ff.

Recherches sur les ferments oxydants, Archives des Sciences physiques et naturelles. IV. période, t. XVII, p. 477–510.

Neuhaus, Contribution a l'étude des ferments oxydants, Genève 1905.

3) Zeitschr. f. physikal. Chemie, Bd. 44, Heft 3.

4) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. L, S. 97 u. ff.

5) C. B. L. Bd. XVIII, Heft 7 u. 8.

Methodisches.

Die qualitative Bestimmung der Katalase führte ich einfach in der Weise aus, dafs ich einige ccm Bouillonkultur der zu untersuchenden Bakterienart mit einigen ccm meist 1%iger Wasserstoffsuperoxydlösung versetzte. Beim Vorhandensein von Katalase kommt es zu einer Gas-, resp. Sauerstoffentwicklung, auf Grund deren Intensität man grobe Angaben über die Menge der vorhandenen Katalase machen kann. Die Gasentwicklung steigert sich vom Aufperlen einiger Gasblasen bis zum explosionsartigen Aufschäumen.

Die quantitative Bestimmung des Wasserstoffsuperoxydes wurde ausschliefslich durch Titration mit Kaliumpermanganat ausgeführt, nachdem ich mich überzeugt hatte, dafs eine andere, nämlich die jodometrische Bestimmungsmethode, mit der ich zunächst zu arbeiten beabsichtigte, für meine Zwecke weniger geeignet sei. Diese letztere hatte ich den Angaben Jolles[1]) entnommen. Dabei wird die mit Schwefelsäure angesäuerte wasserstoffsuperoxydhaltige Flüssigkeit mit einigen Körnchen Jodkalium in Kristallform und noch mit einer geringen Menge Eisensulfat zur Beschleunigung der eintretenden Reaktion versetzt. Nach der Formel $2KJ + H_2O_2 = 2KOH + 2J$ entsteht alsdann aus jedem Molekül H_2O_2 1 Atom J. Das Freiwerden des Jodes nimmt gewöhnlich einige Zeit in Anspruch, ist aber wohl in einer halben Stunde vollendet. Das erhaltene Jod wird mit einer Natriumthiosulfatlösung nach der Formel $2Na_2S_2O_3 + 2J = Na_2S_4O_6 + 2NaJ$ titriert, indem man zunächst bis zur Blafsgelbfärbung der Jodlösung zulaufen läfst, dann Stärkelösung zusetzt und mit dem Verschwinden der Blaufärbung die Titration beendet hat. Ich titrierte mit $\frac{n}{10}$ $Na_2S_2O_3$, von dem 1 ccm 1,7 mg H_2O_2 entspricht.

Mit dieser Methode hatte ich bei Katalasebestimmungen im tierischen Blute, die ich in gleicher Weise wie Jolles vornahm, ganz zufriedenstellende Resultate bei Kontrollversuchen erhalten.

1) Münch. med. Wochenschr. 1904, S. 2083.

Als ich aber die Methode bei den Katalasebestimmungen in Bakterienkulturen und deren Filtraten anwendete, fiel mir bald auf, dafs die Resultate der Kontrollbestimmungen schlecht miteinander übereinstimmten.

Folgende Beobachtung gab mir einen Anhaltspunkt zur Erklärung dieses Umstandes. Je mehr katalasehaltige Flüssigkeit (Bakterienbouillonkultur oder deren Filtrat) ich nämlich in dem einzelnen Versuche verwandte, um so reichlicher bildete sich ein brauner Niederschlag bei der Entstehung des Jodes, und dieser, der ziemlich fest an den Wandungen des benutzten Gefäfses haftete, wurde bei Zusatz der $\frac{n}{10}$ $Na_2S_2O_3$ nur langsam entfärbt und bei Zusatz von Stärke trat wohl ein kurz vorübergehendes Verschwinden der blauen Farbe ein, die sich aber sofort wieder herstellte. Daraus schliefse ich, dafs das freiwerdende Jod mit den in der Bouillon enthaltenen organischen Stoffen eine Verbindung eingeht, aus der das Jod nur schwer und unvollkommen durch $Na_2S_2O_3$ wieder entbunden werden kann. Da nun aber schon nach rasch vollendeter Titration unter gewöhnlichen Verhältnissen die entfärbte Stärke sehr bald wieder blau wird und dies wohl nur aus einer bald wieder eintretenden Abspaltung von freiem J aus dem entstandenen Na J zu erklären ist, so ist die Möglichkeit vorhanden, dafs bei langsam verlaufender Titration die Jodnatriumzersetzung schon während der Titration vor sich geht. Durch Mittitration dieses nachträglich freiwerdenden Jodes ergeben sich dann zu hohe und bei Kontrollversuchen nicht übereinstimmende Jodwerte. Mag dieser Erklärungsversuch richtig sein oder nicht, jedenfalls steht die geschilderte Schwierigkeit bei der Wasserstoffsuperoxydbestimmung nach dieser Methode fest, und aus diesem Grunde schien mir die Methode für meine Versuche ungenügend. Es kommt noch hinzu, dafs sie umständlicher, zeitraubender und teurer ist, als die nun zu besprechende Permanganatmethode, deren Wert ich zunächst durch das Studium der Arbeiten von Chodat und Bach,[1]) ferner von

1) a. a. O.

Senter[1]) kennen gelernt hatte und die, wie ich sehe, jetzt fast allgemein angewandt wird.

Sie beruht auf der Formel $2\,KMnO_4 + 3\,H_2SO_4 + 5\,H_2O_2 = K_2SO_4 + 2\,MnSO_4 + 8\,H_2O + 5\,O_2$. Die Endreaktion wird hierbei durch die Rosafärbung der zu titrierenden Flüssigkeit angezeigt, die durch den ersten Tropfen Kaliumpermanganatlösung nach Zersetzung allen vorhandenen Wasserstoffsuperoxydes hervorgerufen wird. Ich verwendete bei meinen Versuchen eine auf Oxalsäurelösung eingestellte $\frac{n}{100}$ $KMnO_4$ (enthaltend 1,5815 $KMnO_4$ auf 1000 Flüssigkeit). Von dieser Lösung entspricht 1 ccm 0,85 mg H_2O_2. Bei der Titration ist zu beachten, dafs die molekulare Konzentration des Wasserstoffsuperoxydes in der zu titrierenden Flüssigkeit nicht zu hoch sein darf, da sonst bei Zusatz des $\frac{n}{100}$ $KMnO_4$ keine Zersetzung des Wasserstoffsuperoxydes erfolgt. Dies lehrte mich das Fehlschlagen einer Titration höherer konzentrierter Wasserstoffsuperoxydlösung. Jedoch habe ich die Grenzen der Reaktionsmöglichkeit nicht näher untersucht, da mich bei den in unten näher beschriebener Weise angestellten Bestimmungen dies Hindernis nie gestört hat.

Nun kann allerdings auch hier die Anwesenheit organischer Substanzen störend wirken, da Kaliumpermanganatlösung schon bei Zimmertemperatur von organischen Substanzen reduziert wird. Aber ein hierdurch hervorgerufener Titrationsfehler läfst sich auf die Weise umgehen, dafs man bestimmt, wie viel von der Kaliumpermanganatlösung durch eine bestimmte Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit unter gleichen Verhältnissen wie bei der späteren Titration reduziert wird und diesen Wert von dem später erhaltenen Titrationswert abzieht. Bei meinen Versuchen war dieser Wert eine ziemlich konstante Gröfse, da als Träger der organischen Substanz gewöhnlich nur 0,1—0,2 ccm Bouillonkultur in Betracht kam. 0,1 cbm Nährbouillon reduzierten bei Zimmertemperatur innerhalb einiger Mi-

1) a. a. O.

nuten nur 0,1 ccm $\frac{n}{100}$ $KMnO_4$. Da dies ein sehr geringer Wert ist, konnte er bei den Versuchsreihen, wo es mehr auf Vergleichswerte ankam, vernachlässigt werden.

Die Ausführung der quantitativen Katalasebestimmung gestaltete sich nun folgendermafsen. Eine bestimmte Menge der auf ihren Katalasegehalt zu untersuchenden Flüssigkeit (z. B. 1 ccm) wurde, nachdem eventuell in oben angegebener Weise zuvor ermittelt war, wie viel ccm $\frac{n}{100}$ $KMnO_4$ von ihrem Eiweifs reduziert werden, mit Wasser meist auf 90 ccm verdünnt und dann die gewünschte Menge Wasserstoffsuperoxyd hinzugefügt, meist 10 ccm einer ungefähr 1%igen (Gewichtsprozente) Wasserstoffsuperoxydlösung[1]), sodafs die Gesamtmenge 100 ccm betrug. Die Flüssigkeiten wurden in einer 200 ccm-Flasche mit eingeschliffenem Glasstöpsel zusammengebracht. Der Moment, in dem die 1%ige Wasserstoffsuperoxydlösung hinzugefügt wurde, galt als Beginn der Reaktion. Alle verwendeten Flüssigkeiten standen längere Zeit vor Beginn der Reaktion bei der gleichen Temperatur, bei der später die Reaktion ablaufen sollte. War dies die Temperatur 0° C, in schmelzendem Eis, sonst in Wasserbädern oder, wenn Zimmertemperatur gewünscht war, einfach in dem ziemlich gleichmäfsig temperierten Zimmer. Zur Titrierung wurden der Gesamtmenge aus der 200 ccm-Flasche nach der gewünschten Zeit je 10 ccm mit einer Pipette[2]) entnommen und sofort in ein Erlenmeyerkölbchen übertragen, das zirka 30—50 ccm destillierten Wassers und 5 ccm 20%iger Schwefelsäure enthielt. Dieser Schwefelsäurezusatz genügt, um die Katalasereaktion so-

---

1) Die 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung wurde durch möglichst genaue Verdünnung des Merkschen Perhydrols hergestellt, jedoch wurde der wirkliche Gehalt an Wasserstoffsuperoxyd bei jeder frisch bereiteten Lösung und an jedem Versuchstage durch Titration mit $\frac{n}{100}$ $KMnO_4$ genau festgestellt.

2) Alle Flüssigkeiten wurden mit der Pipette abgemessen. Die Pipetten waren entweder zuvor peinlichst gereinigt oder wurden ausschliefslich nur für eine Lösung, z. B. nur zur Abmessung der 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung usw., verwendet.

fort zu unterbrechen. Jetzt folgte unmittelbar die Titration mit $\frac{n}{100}$ $KMnO_4$. Die Einzeltitration nimmt höchstens 2—3 Minuten in Anspruch. Auf diese Weise kann man in bestimmten Zeitabschnitten, z. B. von 5 Minuten, 10 verschiedene Einzeltitrationen von der 100 ccm betragenden Gesamtreaktionsflüssigkeit machen und den zeitlichen Ablauf der Reaktion überschauen.

Bei der Entnahme der Reaktionsflüssigkeit mit der Pipette ist es nötig, sich eines kleinen Kunstgriffes zu bedienen. Läfst man bis zur Entnahme die Reaktionsflüssigkeit ruhig stehen und entnimmt dann ohne weiteres die 10 ccm, so tritt, sofern überhaupt eine nennenswerte Wasserstoffsuperoxydzersetzung stattgefunden hatte, in der entnehmenden Pipette eine starke Gasentwickelung ein, sodafs jedes genaue Abmessen unmöglich wird. Dieselbe Gasentwickelung bekommt man bei Zusatz der Schwefelsäure, aber auch beim einfachen Umschütteln der Flasche. Die Gasentwickelung beruht nicht etwa auf einer plötzlich eintretenden Zersetzung des noch ungespaltenen Wasserstoffsuperoxydes, sondern auf einer Sauerstoffübersättigung der Reaktionsflüssigkeit, die beim ruhigen Stehen eintritt und sehr hochgradig werden kann. Ich konnte mich davon durch gasanalytische Vergleichsversuche überzeugen. Daraus folgt, dafs man die Reaktionsflüssigkeit vor der Entnahme der zur Einzelbestimmung zu verwendenden Menge erst tüchtig umschütteln mufs, dann bekommt man kaum eine Gasentwickelung in der Pipette und kann genau abmessen.

Ehe ich die Methodik in dieser Weise ausgebildet hatte, war ich bei den Bestimmungen nach der jodometrischen Methode in Anlehnung an Jolles[1]) folgendermafsen verfahren. Ich verdünnte die auf ihren Katalasegehalt zu untersuchende Flüssigkeit mit Bouillon auf 10 ccm und fügte dann 10 ccm annähernd 1%iger Wasserstoffsuperoxydlösung hinzu, womit die Reaktion begann. Nachdem sie bei bestimmter Temperatur eine bestimmte Zeit lang gestanden hatte, wurde zur Unterbrechung

1) a. a. O.

der Reaktion eine genügende Menge 20%iger Schwefelsäure hinzugefügt, dann füllte ich mit destilliertem Wasser auf 250 ccm auf und benutzte gewöhnlich 50 ccm dieser Verdünnung zur Ausführung der Einzeltitration nach der jodometrischen Methode. Man kann natürlich die Katalasereaktion auch hier in gleicher Weise, wie vorher bei der Permanganatmethode beschrieben wurde, ansetzen und so mit der gleichen Menge katalasehaltiger Flüssigkeit und Wasserstoffsuperoxyd 10 verschiedene Einzelbestimmungen machen.

Eine dritte Methode, die ich jedoch nur einige Male verwendete, ist die gasanalytische. Ich verfuhr dabei folgendermafsen: Die mit Quecksilber gefüllte Gasbürette brachte ich in Verbindung mit einem Erlenmeyerschen Kölbchen; in diesem waren die katalasehaltige Flüssigkeit (z. B. 1,0 ccm Bouillonkultur mit destilliertem Wasser auf 90 ccm verdünnt) und ein kurzes zylindrisches Gläschen mit Wasserstoffsuperoxydlösung (z. B. 10 ccm einer 1%igen Lösung) enthalten. Das Kölbchen war mit einem Gummistopfen verschlossen. Dessen einzige Bohrung trug einen kleinen Scheidetrichter, aus dem zur Unterbrechung der Reaktion 5 ccm 20%iger Schwefelsäure in das Erlenmeyerkölbchen abgelassen werden konnten. Die Katalasereaktion begann mit Öffnung des Hahnes der Gasbürette und Vermischung des Wasserstoffsuperoxydes mit der katalasehaltigen Flüssigkeit durch Umstülpung des zylindrischen Gläschens. Dann blieb die Reaktion eine bestimmte Zeit lang im Gange (z. B. 30 Minuten) und wurde nach deren Ablauf durch Zusatz der 5 ccm Schwefelsäure, die natürlich nachher von dem Gaswert in Abzug gebracht werden mufsten, unterbrochen. Nun wurde die Flüssigkeit im Erlenmeyerkölbchen tüchtig umgeschüttelt, um die natürlich auch hier eintretende Sauerstoffübersättigung zu beseitigen. Allerdings bleibt hier ein gewisser Teil des Sauerstoffes in der Flüssigkeit gelöst, entsprechend ihrem spezifischen Lösungsvermögen für Sauerstoff. Jedoch kann dieser Wert leicht berechnet und zu dem Gaswert addiert werden; er ist aber unter den obigen Versuchsbedingungen recht gering, so dafs er eventuell vernachlässigt werden kann. Nach dem Umschütteln erfolgt die Ein-

stellung und Ablesung der Gasbürette. Die gasanalytische Methode wurde von Loew[1]) und anderen bei Katalasebestimmungen verwandt. Sie ist natürlich umständlicher und zeitraubender als die Permanganatmethode.

Die Methodik der Gewinnung von Bakterienkatalase war sehr einfach: Ich verimpfte den zu untersuchenden Bakterienstamm auf gewöhnliche neutrale Nährbouillon (10 g Pepton, 10 g Fleischextrakt, 5 g Kochsalz auf 1000 ccm Wasser, Neutralisation mit Normalnatronlauge, von der 2 ccm für das Liter weniger hinzugegeben wurden, als zur Erreichung des mit Phenolphthaleïn als Indikator berechneten Neutralisationspunktes notwendig gewesen wäre, Filtration, Sterilisation); die beimpften Bouillonmengen betrugen 10 ccm bis mehrere Liter. Zur Entwicklung der Kulturen wurden sie bestimmte Zeit bei bestimmter gleichmäfsiger Temperatur (Zimmer- oder Brutschrank) aufgestellt.

Zur Gewinnung keimfreier Bakterienfiltrate filtrierte ich die obigen Bouillonkulturen nach vollendetem Wachstum durch Filtrierkerzen nach Maassen (bezogen aus der Sanitätsporzellanmanufaktur W. Haldenwanger, Charlottenburg). Diese Kerzen lieferten meist ein vollkommen steriles, manchmal nur vereinzelte Keime (höchstens 20 pro ccm) enthaltendes Filtrat. Letzteres war, sofern nur sofort nach der Filtration die Katalasebestimmung erfolgte, für meine Versuche noch durchaus geeignet.

Die Versuchsanordnung bei der Gewinnung der Filtrate war folgende:

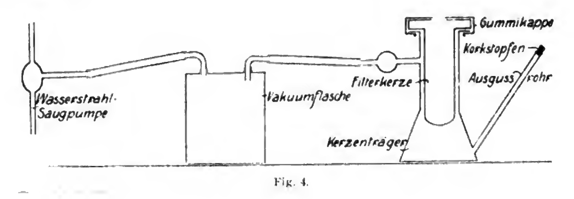


Fig. 4.

1) a. a. O.

Die Filterkerze safs auf einem länglichen, unten sich erweiternden, oben an der Öffnung mit einem abgeschliffenen, verbreiterten Rande versehenen Glasgefäfs. Oben an der Seitenwand trug dieses eine an einer Stelle kuglich aufgeblasene Röhre, die zur Saugpumpe führte, und eine zweite dicht am Boden, die schräg nach oben anstieg und zum Ausgiefsen des Filtrates diente. Die Filterkerze pafste in die obere Öffnung und lag mit ihrem Rande auf dem oberen Rande des Glasgefäfses; der noch bleibende Spalt wurde mit einer entsprechend der Öffnung der Filterkerze durchlöcherten Gummikappe luftdicht verschlossen. Die vor dem Beginn der Filtration mit Watte verschlossenen Öffnungen der beiden Röhren wurden bei Beginn der Filtration geöffnet, die Ausgufsröhre mit einem Korkstopfen wieder verschlossen, die andere blieb offen.

Die Reinigung der benutzten Filter erfolgte in der Weise, dafs destilliertes Wasser in umgekehrter Richtung durch die Filterkerze hindurchgesaugt wurde. Zu diesem Zwecke setzte ich mittelst einer durchlöcherten Gummikappe einen Glastrichter auf die Filterkerze, schlofs die Ausflufsöffnung des Trichters an die Saugpumpe an und setzte die Filterkerze in heifses destilliertes Wasser. Nachdem die Filterkerze wieder mit dem Glasgefäfs zusammengesetzt war, erfolgte die Sterilisation in strömendem Dampfe.

Natürlich blieb in der auf diese Weise vorbereiteten Filterkerze Wasser zurück, doch war dessen Menge nicht beträchtlich und aufserdem liefs es sich ja durch Ausgiefsen der zuerst filtrierten Filtratmengen leicht entfernen.

Allgemeines über Bakterienkatalase.

Ehe ich die Fähigkeit von Bakterienkulturen, Wasserstoffsuperoxyd unter Entbindung von freiem Wasserstoff zu zersetzen, ohne weiteres auf das Vorhandensein von Katalase zurückführen durfte, erschien es mir notwendig, den Beweis dafür zu erbringen. Ich will das nun in folgendem versuchen.

Zunächst fragte es sich, ob die Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Fähigkeit an das Leben der Bakterienzelle gebunden sei oder nicht. In Erledigung dieser Frage stellte ich folgenden Versuch an:

Je 5 ccm einer Bouillonkultur von bact. prodigiosum werden in einem Reagensglas je 5 Minuten einer bestimmten Temperatur ausgesetzt, darauf ein Teil der so behandelten Kultur zur Bestimmung ihres Keimgehaltes zu Gelatineplatten gegossen, der Rest mit 3 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt und beobachtet, ob Gasbildung eintritt.

Tabelle I.

Temperatur des Wasserbades in ° C	Keimgehalt der Kultur nach der Erwärmung	Gasentwicklung nach der Erwärmung
52—49	Wachstum	stark
55—56	»	»
60	kein Wachstum	»
65	»	»
70	»	»

Durch diesen Versuch ist bewiesen, dafs die *Bakterienzellen eher zu Grunde gehen, als die Fähigkeit der Kultur, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen.*

Einen zweiten Weg, die Substanz, der diese Fähigkeit zukommt, von der Bakterienzelle zu isolieren, bietet die Filtration der Bakterienkultur durch bakteriendichte Filter; solche Filtrationen führte ich, wie ich später noch besprechen werde, in gröfserer Menge aus mit dem Resultate, dafs auch *das keimfreie Filtrat Wasserstoffsuperoxyd zersetzend wirkt.*

Wenn nun auch, wie oben gezeigt, die Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Substanz gegen Erwärmung widerstandsfähiger ist als die Bakterien selbst, so erfordert es doch ihre in Frage stehende Fermentnatur, dafs sie durch stärkere Erwärmung in ihrer Wirksamkeit selbst beeinträchtigt wird. In der Tat zeigte sich, dafs nach kurzem Aufkochen einer vorher kräftig Wasserstoffsuperoxyd zersetzenden Kultur bei Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd keine Gasentwicklung mehr auftrat. Genauer wird der Einflufs höherer Temperaturen durch folgende Versuche wiedergegeben:

In einem Reagensglas wird eine bestimmte Menge des Filtrates einer Prodigiosusbouillonkultur in ein bei bestimmter Temperatur konstantes Wasserbad gestellt und nun nach bestimmten Zeiten für die einzelnen Bestimmungen je 2 ccm herausgenommen. Die 2 ccm werden, wie schon oben beschrieben, mit destilliertem Wasser auf 90 ccm aufgefüllt und dann 10 ccm ca. 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung (genau 111 mg H_2O_2 enthaltend) hinzugefügt. Nach $^1/_2$ stündiger Einwirkung erfolgt die Wasserstoffsuperoxydbestimmung.

Tabelle II.

Anfangstiter 111 mg. Zimmertemperatur.

Dauer des Versuches 30 Min.

Temperatur des Wasserbades ° C	Wasserstoffsuperoxydzersetzung nach einer Wärmeeinwirkung von ? Minuten in mg						
	0 (ohne Erwärmung)	5	10	20	30	40	50
55	45	43	42	41	39	38	36
60	45	40	38	36	32	30	26
60	45	41	39	34	31	29	25
65	44	34	31	26	21	18	16
70	40	24	17	9	0	0	0

Es zeigt sich also, dafs schon durch Verweilen bei 55° die Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Substanz in ihrer Wirksamkeit geschwächt wird, diese Schwächung mit der Länge der Temperatureinwirkung und mit der Temperaturhöhe zunimmt und bei 70° C in 30 Minuten vollständig zerstört wird. Letzteres ist also die Inaktivierungstemperatur für die Prodigiosuskatalase.

Einen weiteren Einflufs übt die Temperatur auf die Fermente in der Weise aus, dafs die Intensität der Fermentwirkung ihren Höhepunkt bei einer bestimmten Temperatur erreicht, ihr sog. Temperaturoptimum. Dies Temperaturoptimum der Wasserstoffsperoxyd zersetzenden Substanz habe ich allerdings nicht bestimmt. Jedoch zeigen folgende Versuche, als Beispiel für eine gröfsere Reihe, die Abhängigkeit der Reaktionsintensität von der Temperatur.

1 ccm einer Kultur von Bacterium prodigiosum zersetzt in 15 Minuten

bei	0° C	. . .	15,3 mg H_2O_2
»	17° C	. . .	28,3 » H_2O_2

4 ccm des Filtrats dieser Kultur zersetzten in 15 Minuten

bei	0° C	. . .	19,55 mg H_2O_2
»	17° C	. . .	30,6 » H_2O_2

Die Reaktionsintensität steigt also, sonst gleiche Versuchsbedingungen vorausgesetzt, von 0°—17° an.

Schliefslich teilt die Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Substanz mit den Fermenten die Eigenschaft, dafs sie aus ihren Lösungen durch chemische Agentien fällbar ist. Dies gelang mir mit Alkohol in bestimmter Konzentration, worauf ich später noch zurückkomme. Weitere Fermentfällungsmittel habe ich in dieser Richtung nicht untersucht.

Durch diese Ausführungen glaube ich vorläufig bewiesen zu haben, dafs die Fähigkeit der Bakterienbouillonkulturen, H_2O_2 unter Entbindung freien Sauerstoffes zu zersetzen, auf die Wirkung eines Fermentes, einer Katalase, zurückzuführen ist, sofern ich die Untersuchungen an einigen wenigen Arten auf die Gesamtheit aller Bakterien übertragen darf. Alle Bakterienstämme also, deren Kulturen Wasserstoffsuperoxyd unter Entwicklung freien Sauerstoffes zersetzen, produzieren Katalase.

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen anderer Autoren über die Katalase aus verschiedenartigen, tierischen und pflanzlichen Geweben konnte auch ich konstatieren, dafs die Katalasereaktion von bestimmten Faktoren beeinflufst wird.

Von der Bedeutung der Temperatur habe ich gesprochen.

Weiter ist die Gröfse der Katalasereaktion von der Anfangskonzentration des Wasserstoffsuperoxydes abhängig, bei höherer Wasserstoffsuperoxydkonzentration wird in der Zeiteinheit von der gleichen Katalasemenge mehr Wasserstoffsuperoxyd zersetzt als bei niederer, wie folgender Versuch zeigt:

Tabelle III.

Katalasemenge: 1 ccm eines Prodigiosusfiltrates.
Anfangstiter: 93,5 mg H_2O_2.
Reaktionstemperatur: 0° C.

Reaktionsdauer in Minuten	Zersetztes H_2O_2 in mg
5	5,1
10	10,2
15	14,45
20	19,35
25	24,65
30	29,75
35	34,0
40	37,4

Katalasemenge: 1 ccm des gleichen Filtrates.
Anfangstiter: 187,0 mg H_2O_2.
Reaktionstemperatur: 0° C.

Reaktionsdauer in Minuten	Zersetztes H_2O_2 in mg
5	8,5
10	16,15
15	23,8
20	30,6
25	36,55
30	42,5
35	48,45
40	54,4

Aufserdem spielt aber, wie besonders aus der Senterschen[1]) Arbeit hervorgeht, die Gegenwart gewisser Substanzen eine grofse Rolle bei dem Ablauf der Katalasereaktion. So wirkt nach Senter die Gegenwart von Alkalien und Säuren, von Kaliumnitrat und Kaliumchlorat verzögernd auf die Katalasereaktion, Anilin wirkt als schwaches, Blausäure als starkes Gift auf die Katalase.

Wenn ich daher meine folgenden Versuche nicht mit physiologisch reinen Katalaselösungen, sondern mit katalasehaltigen Bakterienkulturen und Filtraten angestellt habe, so bin ich mir wohl bewufst, dafs ich so ohne weiteres keine absoluten Werte für die von den einzelnen Bakterienarten produzierten Katalasemengen erhalten kann. Denn es ist ja von vorneherein klar, dafs in den verwendeten Kulturen und Filtraten eine grofse Menge von Substanzen enthalten sein könnten, die die Katalasereaktion beeinflufsen, z. B. Säuren und Basen, die oft in erheblichen Mengen von Bakterienkulturen gebildet werden können. Diese Substanzen werden verschieden sein je nach der Bakterienart.

Zu einer exakten quantitativen Bestimmung wäre es nötig, die Katalase bis zur physiologischen Reinheit aus ihrem Medium

1) a. a. O.

zu isolieren. Wie ich oben erwähnte und wie für Katalasen anderer Herkunft bekannt ist, läfst sich die Katalase mit Alkohol fällen.

Ich habe eine Reihe derartiger Fällungsversuche bei Bakterienfiltraten angestellt, die ich hier wiedergeben möchte.

Zunächst einige qualitative Versuche, bei denen bestimmte Mengen von Bakterienfiltraten mit dem vierfachen 96% Alkohols versetzt wurden. Ich erhielt einen klebrigen Niederschlag, der nach Trocknung ein weifslich-gelbes Pulver darstellte. Das Pulver war in Wasser leicht löslich und seine wässerige Lösung zersetzte gut Wasserstoffsuperoxyd. Ob dieses Pulver die Katalase physiologisch rein darstellte, habe ich nicht untersucht.

Es war nun meine Aufgabe festzustellen, bei welcher Alkoholkonzentration alle vorhandene Katalase auszufällen sei.

Zu diesem Zwecke versetzte ich 50 ccm des Filtrates einer 1 Monat alten Kultur von Bacterium pseudotuberculosis rodentium, von dem vorher 1 ccm in 15 Minuten bei 17° C und 99,45 mg Wasserstoffsuperoxydanfangskonzentration 19,55 mg H_2O_2 zersetzt hatte, mit je 100, resp. 150 ccm Alkohol, erhielt wieder einen klebrigen Niederschlag und durch Trocknung desselben (12 Stunden lang bei 37° C) ein gelbliches Pulver. Die 1 ccm des ursprünglichen Filtrates entsprechende Menge des in Wasser gelösten Pulvers zersetzte in beiden Fällen unter gleichen Bedingungen wie vorher das Filtrat 11,9 mg H_2O_2. Daraus geht hervor, dafs durch 100 und 150 ccm Alkohol gleichviel Katalase gefällt wird, dafs aber bei der Alkoholfällung Katalase zu Verlust ging, da die Wasserstoffsuperoxydzersetzung durch entsprechende Mengen des Niederschlages erheblich geringer war als die durch das Filtrat selbst.

In einem anderen Falle, wo ich 100 ccm eines Filtrates von Bacillus tenuis mit 500 ccm Alkohol absolutus versetzt hatte, erhielt ich einen Niederschlag, von dem nach einstündiger Trocknung bei 37° C die 0,5 ccm des Filtrates entsprechende, in Wasser gelöste Menge 36,55 mg H_2O_2 zersetzte, während

0,5 mg Filtrat unter gleichen Bedingungen 30,6 mg H_2O_2 zersetzt hatten.

Weitergehende Schlüsse über den Grad der Fällbarkeit der Katalasen möchte ich aus diesen Versuchen nicht ziehen, sondern sie nur als erste Schritte zu einer exakten Methode der Katalasebestimmung anführen.

Ich möchte besonders noch auf eine Möglichkeit hinweisen, die das Bild einer reinen Katalasereaktion der Bakterienkulturen und Filtrate stören könnte: Die Anwesenheit von Oxydationsfermenten. Ein Teil des Wasserstoffsuperoxydes könnte vielleicht durch eventuell vorhandene Peroxydase nach Chodat und Bach zu Oxydationszwecken in Anspruch genommen werden. Bisher ist allerdings noch wenig über die Oxydationsfermente der Bakterien bekannt, Sano[1]) konnte in seinen unter der Leitung von Prof. Lehmann angestellten Untersuchungen nur bei einer sehr geringen Anzahl von Bakterienarten Oxydationsfermente nachweisen. Vielleicht würden sich aber bei einem näheren Studium der Bakterienkatalasen Gesichtspunkte ergeben, die Oxydationsfermente auf einem indirekten Wege nachzuweisen. Dies könnte in der Weise geschehen, dafs zunächst mit der Permanganatmethode der absolute Wert des Wasserstoffsuperoxydverbrauches, danach mittelst der gasanalytischen Methode der Wert des unter Bildung freien Sauerstoffes zersetzten Wasserstoffsuperoxydes berechnet würde. Die Differenzen beider Werte können eventuell auf Peroydasewirkung bezogen werden.

Einen derartigen Versuch, d. h. Bestimmung des Wasserstoffsuperoxydverbrauches nach beiden Methoden, habe ich mit einem Prodigiosusfiltrat angestellt, fand aber in diesem Falle ziemlich übereinstimmende Werte. Doch beweist das nur, dafs in dem Filtrat nach dieser Methode keine Peroxydase nachzuweisen war, dafs das Filtrat nur Katalase enthielt. Es könnte, falls die Oxydationsfermente nur endogener Natur wären, der Versuch

1) Beiträge zur Kenntnis der Oxydasen, insbesondere der Bakterien. Inaug.-Diss. Würzburg 1902.

mit der Bakterienkultur selbst anders ausfallen. Leider habe ich einen solchen nicht angestellt. Weiter könnte man einen positiven Ausfall nach Zusatz einer geeigneten oxydablen Substanz bekommen, die ja zur Peroxydasereaktion neben dem Wasserstoffsuperoxyd vorhanden sein mufs. Ich führe diese Erwägungen hier nur als Ausblick auf eine Möglichkeit an, der Bestimmung der Bakterienoxydationsfermente näher zu treten, eine Möglichkeit, die mir einer eingehenden Nachprüfung wert erscheint.

Obgleich ich mir also über mannigfaltige Fehlerquellen, die meiner Methodik vielleicht noch anhaften könnten, klar geworden bin, möchte ich trotzdem glauben, dafs diese bei meinen folgenden Versuchen aufser Acht gelassen werden können, wie ich unten noch auseinandersetzen werde.

Ekto- und Endokatalase.

Loew[1]) unterscheidet zwei verschiedene Arten von Katalase, die eine ist unlöslich, an Nukleoproteid, d. h. an die Zelle gebunden, mit andern Worten ein Endoferment oder -encym, eine Endokatalase, die er als α-Katalase bezeichnet, zweitens eine in Wasser lösliche, die er β-Katalase benennt, also eine Ektokatalase. Letztere entspricht der Katalase, die ich in den Filtraten der Bakterienkulturen nachweisen konnte.

Die α- oder Endokatalase glaubte ich in der Weise bestimmen zu können, dafs ich den Wert der Wasserstoffsuperoxydzersetzung der Kultur mit dem der gleichen Menge ihres Filtrates verglich. Die Differenz beider Werte liefse sich unter gewissen Voraussetzungen auf Endokatalase beziehen.

Die Kulturen waren, wie oben näher beschrieben, in Bouillon bestimmte Zeit bei bestimmter Temperatur gewachsen und wurden dann filtriert. Die Katalasebestimmung erfolgte nach der Permanganatmethode, wobei ich darauf achtete, dafs die Bestim-

1) C. B. I., Bd X, S. 177 ff.

mungen der miteinander zu vergleichenden Kulturen und Filtrate stets unter gleichen Bedingungen erfolgten, d. h. bei gleicher Temperatur und Konzentration. Ich begnügte mich nicht mit einer einzigen Titration, sondern führte eine Reihe von Titrationen im Laufe der Katalasereaktion von 5 zu 5 Minuten aus. Dadurch hatte ich eine Reihe von Vergleichszahlen und war so vor zufälligen Ungenauigkeiten geschützt.

Um festzustellen, der wievielste Teil der in der Kultur vorhandenen Katalase im Filtrat enthalten sei, verfuhr ich meist so, dafs ich die Filtratmenge solange erhöhte, bis ich die Menge Filtrat fand, die etwa die gleiche Kurve der Wassersuperoxydzersetzung gab, wie die ursprüngliche Kulturmenge. Ein Beispiel wird mein Vorgehen demonstrieren und zugleich die Wiedergabe all meiner Versuche in extenso überflüssig machen.

Tabelle IV.

Versuch mit einer 10 Monate alten Kultur von Bact. prodigiosum und deren Filtrat.
Wasserstoffsuperoxydanfangskonzentration: 98,6 mg.
Temperatur der Reaktion: 17°.

Reaktionsdauer in Minuten	Wasserstoffsuperoxydzersetzung in mg			
	1 ccm Kultur	2 ccm Filtrat	3 ccm Filtrat	4 ccm Filtrat
5	11,05	6,8	9,35	12,75
10	20,4	12,75	17,0	22,1
15	28,45	17,85	23,8	30,6
20	35,7	22,1	29,75	37,4
25	41,65	26,35	34,85	43,35
30	46,75	29,75	39,1	48,45
35	51,0	33,15	43,35	52,7
40	54,82	35,7	46,75	56,95

Daraus ergibt sich, dafs 1 ccm Kultur die gleiche Kurve der Wasserstoffsuperoxydzersetsung hat wie 4 ccm Filtrat, oder dafs 1 ccm Kultur in 40 Minuten ebensoviel Wasserstoffsuperoxyd zersetzt wie 4 ccm Filtrat, dafs also 1 ccm Kultur ebensoviel Katalase wie 4 ccm Filtrat oder das Filtrat nur $^1/_4$ Katalase der Kultur enthält.

Nur einige Male habe ich auch durch Vergleich des in der Zeiteinheit von gleichen Mengen Kultur und Filtrat zersetzten Wasserstoffsuperoxydes Annäherungswerte berechnet. Wenn z. B. 1 ccm Kultur in 60 Minuten 40,8 mg Wasserstoffsuperoxyd zersetzt und 1 ccm Filtrat in der gleichen Zeit bei gleicher Anfangkonzentration 14,45 mg, so gibt der Quotient 14,45 : 40,8, annähernd 1 : 3 das Verhältnis des Katalasegehaltes des Filtrates zu dem der Kultur an, es wird also der Schlufs gezogen, dafs die Kultur dreimal soviel Katalase enthält als das Filtrat.

Ehe man Kultur und Filtrat miteinander vergleichen kann, mufs die Frage erledigt werden, ob das nach obiger Methode enthaltene Filtrat wirklich Kultur minus Bakterien darstellt.

Es wäre zunächst möglich, dafs durch das Filter ein Teil der Katalase absorbiert würde und so zu Verlust käme. Dagegen sprechen Versuche, bei denen ich in den Filtraten von Kulturen verschiedener Bakterienarten (s. u.) genau soviel Katalase fand wie in den Kulturen selbst. Allerdings liefsen sich diese Kulturen teilweise sehr leicht filtrieren. Bei anderen dagegen wurde die Filtration sehr bald verlangsamt, was sich wohl durch die Verstopfung der Filterporen mit Bakterien erklärt. Doch wenn man dann, wie ich es in einer ganzen Reihe von Versuchen getan habe, die ersten, zweiten und dritten 100 ccm des Filtrats gesondert auffängt und untersucht, so enthalten sie alle drei gleiche Mengen Katalase. Daraus geht wohl einwandsfrei hervor, dafs in den von mir verwandten Filtern keine Katalase zurückgehalten wurde. Natürlich mufs man auch die im methodischen Teil angegebenen Fehlerquellen vermeiden.

Eine weitere Forderung ist die, dafs die Filtrate möglichst am gleichen Tag filtriert und auf ihren Katalasegehalt untersucht werden, nachdem die Katalasebestimmung der Kultur auch an diesem Tage möglichst bei Beginn der Filtration erfolgt ist. Der Katalasegehalt der Filtrate nimmt nämlich beim Aufbewahren, auch im Eisschrank, bald ab. Ich stellte fest, dafs ein Prodigiosusfiltrat nach 24 Stunden

allerdings noch unverändert war, nach 6 Tagen hatte ein anderes bedeutende Katalaseverluste erlitten. Von einem Filtrat einer Bacillus tenuis-Kultur enthielten nach 3 Tagen 1,5 ccm nur noch ebensoviel Katalase wie 1 ccm zuvor.

Hiermit glaube ich gezeigt zu haben, dafs der Vergleich zwischen dem Katalasegehalt der Kultur und des Filtrates in einwandfreier Weise möglich ist. Ich kann deshalb zur Besprechung meiner Resultate, die ich durch derartige Vergleiche erhielt, übergehen.

Tabelle V.

Alter und Art der Bouillonkultur	Keimzahl derselben in 1 ccm	Verhältnis des Katalasegehaltes der Bouillonkultur zum Katalasegehalt ihres Filtrates
Bact. prodigiosum, 38 Stunden alt		1 : 0
» 62 » »	1 000 000 000	1 : 0
» 3 Tage »	2 000 000 000	1 : 30 bis 1 : 50
» 23 » »	590 000 000	1 : 5
» ohne Altersangabe		1 : 4 bis 1 : 5
» 26 Tage alt .		1 : 3 bis 1 : 4
» 1 Monat » . .		1 : 10 bis 1 : 5
» 4 » » . .	113 000 000	1 : 3 bis 1 : 4
» 4 ½ » » . .	40 000 000	ca. 1 : 2
» 10 » » . .	10 000 000	1 : 2 bis 1 : 3
Bac. tenuis [1]), 3 Tage alt . . .		ca. 1 : 1
» [1]), 6 » » . . .		ca. 1 : 1
Bact. pyocyaneum, 1 Monat alt		1 : 2, später 2 : 3
Bact. pseudotuberculosis rodentium, 1 Monat alt		fast 1 : 1
Bact. capsulatum, 1 Monat alt . .		etwas weniger als 1 : 1
Bact. levans (Stamm Schwarzbrod), 1 Monat alt		1 : 3

Was zunächst das Bacterium prodigiosum betrifft, so läfst sich in jüngeren Kulturen nur in der Kultur selbst Katalase nachweisen, mit dem Alter der Kultur steigt der Gehalt an Katalase im Filtrat allmählich an, bleibt aber auch bei ganz alten Kulturen noch wesentlich hinter dem Gehalte der Kultur selbst zurück, sodafs das Filtrat dieser

1) Bei 37° C gewachsen, alle anderen bei Zimmertemperatur.

Kulturen nur höchstens die Hälfte der Kulturkatalase enthält. Gleichzeitig mit der Vermehrung der Katalase im Filtrat findet eine Verminderung der Keimzahl der Kultur statt.

Daraus lassen sich wohl folgende Schlüsse ziehen. Kulturen von bacterium prodigiosum enthalten zwei verschiedene Arten von Katalase. Die eine ist an den Bakterienkörper gebunden, also eine Endokatalase oder α-Katalase nach Loew, die andere geht in das umgebende Medium über, ist löslich, also eine Ektokatalase oder β-Katalase nach Loew. Die Ektokatalase scheint aus der Endokatalase nach dem Absterben der Bakterienzelle hervorzugehen, jedoch nicht sofort mit dem Absterben der Bakterienzelle, sondern erst allmählich, scheinbar sehr langsam, denn in alten Kulturen, die nur noch den 25.—100. Teil des Keimgehaltes junger Kulturen enthalten, ist trotzdem nur die Hälfte der Gesamtkatalase in dem Filtrate enthalten. Bei der Annahme, dafs die Katalase im Momente des Absterbens der Bakterienzelle in das Filtrat überginge, müfste aber, da ja das Filtrat junger Kulturen fast gar keine Katalase enthielt, der Katalasegehalt dieser alten keimarmen Kulturen und ihrer Filtrate fast gleich sein.

Diese Folgerungen gelten natürlich nur unter der Annahme, dafs die Wasserstoffsuperoxydzersetzung der Kulturen allein auf Katalasewirkung zurückzuführen ist, was ich noch nicht sicher bewiesen habe, während ich mich, wie oben gezeigt, durch Übereinstimmung der Werte, die mit der Permanganatmethode und der gasanalytischen Methode gewonnen wurden, von der reinen Katalasewirkung der Filtrate überzeugte. Der ganz ähnliche, gleichmäfsige Verlauf der Katalasereaktion auch bei den Kulturen spricht sicher dafür, dafs auch hier eine reine Katalasereaktion vorliegt; eine daneben herlaufende Peroxydreaktion würde vermutlich die Katalasereaktion erheblich in ihrem gleichmäfsigen Verlauf stören.

Die vereinzelten Versuche mit den anderen Bakterienarten gestatten nur grobere Schlüsse. Bacterium pyocyaneum und bacterium levans enthalten in ihren Kulturen eben-

falls **Ekto-** und **Endokatalase**, verhalten sich vielleicht ähnlich wie bacterium prodigiosum. Bei **bacterium pseudotuberculosis rodentium, bacterium capsulatum** und **bacillus tenuis**, bei letzterem schon nach 3 Tagen, war **nur** noch **Ektokatalase** nachzuweisen. Ob hier der Übergang von Endokatalase in Ektokatalase schneller vor sich geht, veranlafst durch schnelleres Absterben der Keime, ob dieser Übergang bei bacillus tenuis vielleicht in gewisser Beziehung zur Sporulation steht, mufs Gegenstand weiterer Versuche sein.

Qualitative und quantitative Katalasebestimmungen zur Orientierung über die Verbreitung der Katalase in Bakterienbouillonkulturen.

Um einen Überblick über die Katalaseproduktion der verschiedenen Bakterienspezies im Rohen zu gewinnen, habe ich mit Bouillonkulturen des gröfsten Teiles der Sammlungsstämme des Institutes (ca. 200 Stämme und ca. 90 verschiedene Spezies) in oben beschriebener Weise die qualitative Katalasebestimmung angestellt. Jeder einzelne Stamm wurde auf 2 Bouillonröhrchen verimpft, von diesen das eine bei Zimmertemperatur, das andere im Brutschrank für 8—14 Tagen aufgestellt, nötigenfalls auch längere Zeit bis zum deutlichen Wachstum. Dann wurden einige ccm der Kultur zur Katalasereaktion verwendet.

Je nach der Intensität der Sauerstoffentwicklung habe ich diese als gering (Aufsteigen nur einzelnen Gasbläschen), mäfsig, gut, stark und sehr stark (explosionsartig vor sich gehende Gasentwicklung) bezeichnet. Auf diese Weise konnte ich einen rohen Überblick über die Menge der Katalase gewinnen, die von den einzelnen Bakterienarten gebildet wurde.

Bei einer Anzahl von Kulturen habe ich aufserdem noch durch Zusatz von 1 Tropfen 1 proz. alkoholischer Phenolphthaleïnlösung zu einigen ccm der Kultur deren Reaktion festgestellt und dieselbe, wenn keine Rotfärbung eintrat, als sauer, wo solche vorhanden war, je nach der Intensität der Rotfärbung als alkalisch, stark und sehr stark alkalisch bezeichnet.

Tabelle VI.

Übersicht über den Katalasegehalt von Bakterienbouillonkulturen.

Bakterienspezies	Wasserstoffsuperoxydzersetzung	Reaktion der Kultur	Wasserstoffsuperoxydzersetzung	Reaktion der Kultur	Bemerkungen
Sarcina pulmonum . .	gut		gut		
» fulva	mäfsig		»		
» tetragena (2 Stm.)	»		»		
» equi	gut		gering		
» lividolutescens .	stark		»		
» canescens . .	gut		—		
» variabilis . . .	gering		gering		
» flava	gut		stark		
» alba	gering		—		
» aurantiaca . .	gut		stark		
» cervina . . .	mäfsig		gut		
» erythromyxa .	gut		mäfsig		
» rosea	stark		gering		
Micrococcus intracellularis (2 Stämme) . . .	0		sehr gering		
Micrococcus candicans (5 Stämme)	gut bis mäfsig		gering bis gut		
Micrococcus coronatus .	gut		gut		
» luteus . .	gut		gering		
» flavus (3 Stäm.)	verschied.		verschied.		
» sulfureus .	gut		gering		
» pyogenes α aureus (frisch isoliert. Stamm)	gut		gut		
Micrococcus pyogenes α aureus (4 alte Stämme)	mäfsig		mäfsig		
Micrococcus pyogenes β citreus	gut		gering		
Micrococcus pyogenes γ albus (2 Stämme) . .	mäfsig		mäfsig		
Micrococcus bicolor (3 Stämme)	gut		gut		
Micrococcus roseus (6 Stämme)	mäfsig bis gut		gering		tlw. nicht gewachs.
Bacterium suicida . .	gut	alkalisch	»	alkalisch	
» pseudotuberculosis rodentium (2 Stämme)	sehr stark	»	sehr stark	»	

Bakterienspezies	Wasserstoff-superoxyd-zersetzung	Reaktion der Kultur	Wasserstoff-superoxyd-zersetzung	Reaktion der Kultur	Bemerkungen
Bacterium acidi lactici (10 Stämme)	gering bis mäfsig	meist alkalisch	mäfsig bis gering	alkalisch	
Bacterium pneumoniae (2 Stämme)	gering	alkalisch	gering	»	
Bacterium typhi (6 St.)	»	meist alkalisch	»	»	
» paratyphi A .	»	nicht alkalisch	0	nicht alkalisch	
» » B .	»	nicht alkalisch	gering	»	
» coli (7 Stämme)	gering bis mäfsig	alkalisch	gering bis mäfsig	alkalisch	
» » St. murex	gut	stark alkalisch	mäfsig	»	
» pyogen. foetidum	»	alkalisch	gut	stark alkalisch	
» levans (15 Stäm.)	gering	mst. nicht alkalisch	gering	meist alkalisch	
» » (aus Schwarzbrot)	stark	alkalisch	stark	alkalisch	
Bacterium alcaligenes .	0	»	0	stark alkalisch	
» cholerae suum	gut	nicht alkalisch	gut	alkalisch	
» der Darmdiphtherie	stark	eben alkalisch	stark	eben alkalisch	
Bacterium diphtheriae columbarum	gering	nicht alkalisch	gering	»	
Bacterium typhi murium (2 Stämme)	—	—	mäfsig bis gering	stark alkalisch	
Bacterium Stutzeri . .	gut	nicht alkalisch	stark	sehr stark alkalisch	
Bacterium disciformans (2 Stämme)	gut	nicht alkalisch	gut	nicht alkalisch	
Bacterium vitulinum (3 Stämme)	gut	eben alkalisch	gut	stark alkalisch	
Bacterium turkosum .	gut	nicht alkalisch	mäfsig	nicht alkalisch	
» helvolum (2 Stämme)	gering bis mäfsig	alkalisch	—		

Bakterienspezies	Wasserstoff-superoxyd-zersetzung	Reaktion der Kultur	Wasserstoff-superoxyd-zersetzung	Reaktion der Kultur	Bemerkungen
Bacterium nubilum . .	gut	nicht alkalisch			
» ochraceum (3 Stämme)	»	meist alkalisch	stark	alkalisch	
Bacterium ochraceum (2 Stämme)	gering	nicht alkalisch	mäfsig	»	teilweise wenig gewachsen
Bacterium fulvum (4 Stämme)	gering bis mäfsig	alkalisch	meist gut	stark alkalisch	
Bacterium chrysogloea incarnatum	gut	nicht alkalisch	mäfsig	alkalisch	
Bacterium latericium .	mäfsig	»	—		
» prodigiosum (6 Stämme)	sehr stark	stark alkalisch	sehr stark	stark alkalisch	
Bacterium rosaceum .	—		gut	alkalisch	
» kiliense (3 Stämme)	gut	nicht alkalisch	mäfsig	nicht alkalisch	bei 37° wenig gewachsen
Bacterium violaceum (2 Stämme)	»	alkalisch	—	—	bei 37° nicht gewachsen
Bacterium indigoferum	0	»	0	alkalisch	»
» caeruleum .	gut	»	mäfsig	nicht alkalisch	
» pyocyaneum (5 Stämme)	»	nicht alkalisch	stark	sehr stark alkalisch	
Bacterium fluorescens (4 Stämme)	mäfsig bis gut	alkalisch	—		»
Bacterium putidum . .	gut	»	—		»
» dinitrificans .	»	eben alkalisch	mäfsig	stark alkalisch	
» vulgare . .	stark	alkalisch	stark	alkalisch	
» nicht näher bestimmt, als pneumoniae Proteus arborescens bezeichnet .	»	»	sehr stark	stark alkalisch	
Bacterium, nicht näher bestimmt, als capsulatum bezeichnet . .	»	»	stark	»	

Bakterienspezies	Wasserstoffsuperoxydzersetzung	Reaktion der Kultur	Wasserstoffsuperoxidzersetzung	Reaktion der Kultur	Bemerkungen
Bacillus anthracis (7 Stämme)	mäfsig	nicht alkalisch	gut bis mäfsig	schwach alkalisch	
Bacillus anthracoides (2 Stämme)	mäfsig bis gut	»	gut	alkalisch	
Bacillus subtilis (2 Stämme)	gut	»	mäfsig	—	
Bacillus mycoides . .	gering	»	gering	—	
» tenuis . . .	stark	eben alkalisch	sehr stark		
» implexus . .	mäfsig	—	—		
» megatherium .	gut	nicht alkalisch	mäfsig	—	
» tumescens . .	»	»	gut	—	
» butyricus . .	mäfsig	eben alkalisch	—	—	
» vulgatus (2 Stämme)	gering	nicht alkalisch	0	—	bei 37° gering gewachsen
Bacillus geniculatus . .	0	»			»
» mesentericus ruber	stark	alkalisch	gut	schwach alkalisch	
Bacillus asteros porus .	gut	nicht alkalisch	stark	stark alkalisch	
» disciformans .	stark	»	sehr stark	»	
» gangraenosus .	gut	»	stark	»	
Vibrio proteus	gering	eben alkalisch	—	—	
» tyrogenes . . .	»	»	—	—	
» aquatilis . . .	»	»	—	—	
» albensis (3 Stämme)	»	»	—	—	
Vibrio saprophiles . .	gut	nicht alkalisch	gut	stark alkalisch	
Spirillum serpens . . .	mäfsig	»	—	—	
Corynebacterium mallei (2 Stämme)	0	—	0	—	
Corynebacterium pseudodiphthericum (2 Stämme)	mäfsig	—	gut bezw. gering	—	

Bakterienspezies	Wasserstoffsuperoxydzersetzung	Reaktion der Kultur	Wasserstoffsuperoxydzersetzung	Reaktion der Kultur	Bemerkungen
Mycobacterium tuberculosis var. poikilothermorum (3 Stämme)	sehr gering	—	—	—	
Mycobacterium lacticola (6 Stämme)	meist nur gering	—	gering	—	
Actinomyces chromogenes	mäßig	—	—	—	
Actinomyces (4 nicht näher best. Stämme .	gering	—	—	—	

Diese Versuchsreihe zeigt, dafs Katalase von fast allen untersuchten Bakterienstämmen mit nur wenigen Ausnahmen in mehr oder weniger hohem Grade gebildet wird. Da ich nun Vertreter sehr vieler verschiedener Bakterienarten untersuchte, so bin ich zu dem Schlufs berechtigt, dafs die Katalase ein unter den Bakterien allgemein verbreitetes Ferment ist.

Im einzelnen ergibt sich folgendes. Die Katalasebildung in gewöhnlicher Nährbouillon ist bei verschiedenen Bakterienspezies quantitativ sehr verschieden. Ob diese Verschiedenheit in einem Abhängigkeitsverhältnis von der Reaktion der Kultur steht, läfst sich aus der Tabelle nicht schliefsen, dagegen zeigen verschiedene Stämme ein und derselben Bakterienart unter gleichen Kulturbedingungen meist eine gute Übereinstimmung der Gröfse ihrer Katalaseproduktion. Die in der Tabelle angeführten Ausnahmen von dieser Regel sind gering und die abweichenden Stämme müssen, ehe man derartige Ausnahmen als bewiesen betrachten kann, jedenfalls noch näher untersucht werden.

Daraus glaube ich schliefsen zu dürfen, dafs schon der qualitativen Katalasereaktion vielleicht ein gewisser differenzial diagnostischer Wert zukommt.

Über die absolute Gröfse der Katalaseproduktion lassen sich mit der von mir angewandten Methodik aus Gründen, die ich oben schon anführte, vielleicht keine exakten Angaben machen.

Ich möchte aber trotzdem zum Vergleich mit den qualitativen Versuchen die quantitativen Werte der Wasserstoffsuperoxydzersetzung, die ich bei der Untersuchung einer Anzahl verschiedener Bakterienkulturen erhielt, hier kurz anführen.

Tabelle VII.

Art und Alter der Kultur	Menge der Kultur	Anfangsgehalt von H_2O_2 in mg	Es werden zersetzt		
			bei ? Temperatur	in ? Min.	? mg H_2O_2
Bact. prodigiosum, 38 Stunden alt . .	1,0	106,25	—	60	44,2
do. 62 » » . .	1,0	113,05	—	60	64,2
do. 3 Tage alt . . .	1,0	106,25	—	60	59,5
do. 23 » » . . .	1,2	106,25	—	60	52,7
do. 26 » » . . .	1,0	99,45	—	60	40,8
do. 4 Monate alt . .	1,0	97,75	0°	60	51,4
			17°	60	67,15
do. 4½ » » . .	1,0	98,6	17°	30	64,6
do. 10 » » . .	1,0	98,6	17°	30	41,65
Bac. tenuis [1]), 3 Tage alt	1,0	97,75	15°	15	13,15
do. 6 » »	1,0	96,9	17°	5	85,85
	0,5	96,9	17°	5	12,9
	0,1	96,9	17°	5	11,6
Bact. pyocyaneum	1,0	100,3	17°	15	11,05
Bact. tuberculosis rodentium, 1 Mon. alt	1,0	96,9	17°	15	22,95
Bact. capsulatum	1,0	98,6	17°	15	23,8
Bact. levans Schwarzbrot	1,0	97,75	17°	15	30,6

Zusammenfassung.

1. Die Kaliumpermanganatmethode der quantitativen Bestimmung des Wasserstoffsuperoxydes in Flüssigkeiten, die geringe Mengen von Bakterienbouillonkulturen und und deren Filtraten, d. h. von organischer Substanz enthalten, hat vor der jodometrischen Methode den Vorzug gröfserer Genauigkeit und schnellerer Ausführung und wurde deshalb bei den obigen Katalasebestimmungen in Bakterienbouillonkulturen

1) Bei 37° gewachsen, während alle anderen bei 27° gewachsen sind.

und deren Filtraten fast allgemein angewandt. Die gasanalytische Methode arbeitet ebenfalls genau, ist aber sehr zeitraubend.

2. Die Eigenschaft von Bakterienbouillonkulturen, unter Entwicklung freien Sauerstoffes Wasserstoffsuperoxyd zu spalten, beruht auf der Wirksamkeit eines spezifischen, von den Bakterien gebildeten Fermentes, der Katalase.
3. Die Bakterienkatalase tritt als Ektoferment und als Endoferment auf.
4. Die Katalasebildung ist eine fast allgemein verbreitete Fähigkeit der Bakterien. Sie ist allerdings quatitativ bei den einzelnen Arten sehr ungleich.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann für seine Anregung und sein stets lebhaftes Interesse an meiner Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Malaria und Anopheles in Leipzig.

Von

Dr. med. **Arno Trautmann,**
Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Franz Hofmann.)

Vor ungefähr 40 Jahren hat sich Thomas der grofsen Mühe unterzogen, in zwei wertvollen Arbeiten über Wechselfieber in der Leipziger Gegend die während der Jahre 1832—1865 in den verschiedenen Krankenhäusern, der armenärztlichen Praxis usw. beobachteten 5517 Wachselfieberfälle zusammenzustellen. Da diese Arbeiten über den damaligen Stand der Epidemiologie des Wechselfiebers gut orientieren, in erster Linie für Leipzig von Interesse sind, wird es angebracht sein, eine kurze Inhaltsangabe derselben zu geben. Thomas ist zu seinen Untersuchungen über die Aetiologie des Wechselfiebers dadurch angeregt worden, dafs die in Leipzig früher endemische und sehr verbreitete Krankheit innerhalb der letzten Jahre aufserordentlich abgenommen hat. In den 30er Jahren noch sehr verbreitet, nahm sie bis 1846 bedeutend ab, dann trat eine Steigerung ein, deren Maximum in die Jahre 1847—1849 fällt, hierauf ein Nachlassen, dann eine Zunahme der Krankheit in den Jahren 1853—1855, sodann eine Abnahme mit einer nochmaligen Steigerung in den Jahren 1859—1860, die jedoch nicht die frühere beobachtete Höhe erreichte, und von da an ein nur 1862 von einer geringen Zunahme der Fälle unterbrochenes Sinken der Krankheit. Dieser

Wechsel in der Zu- und Abnahme liefs sich in gleicher Weise auch in der Umgebung der Stadt erkennen. Nach Thomas kam hier nur »das einfache Wechselfieber, meistens in tertianer und quotidianer, selten in quartaner Form« vor, während »larvirte Fieber oder andere Modifikationen« sehr vereinzelt sich zeigten. Auch im übrigen Deutschland war in jener Zeit die Zahl der Fieber hoch. Sie erreichten namentlich in den Jahren 1852—1855 in Norddeutschland eine beträchtliche Ausdehnung und hielten sich dann auf einer mittleren Höhe.

Thomas erkennt den gröfsten Einflufs auf die Verbreitung des Wechselfiebers den lokalen Verhältnissen zu. In dieser Beziehung spielen bei ihm Bodenfeuchtigkeit, Überschwemmungen, Sümpfe, Regen, Winde und Grundwasser eine grofse Rolle. Was die Häufigkeit der Erkrankungen in den einzelnen Monaten betrifft, so hat Thomas gefunden, dafs die Leipziger Epidemien im wesentlichen Frühjahrsepidemien waren. In den Jahren 1851 bis 1864 waren in den einzelnen Monaten durchschnittlich erkrankt:

Januar	4	Juli	37
Februar	12	August	30
März	45	September	23
April	79	Oktober	1
Mai	141	November	6
Juni	79	Dezember	2

Thomas' Untersuchungen bezüglich des Vorkommens der Wechselfiebers haben ergeben, dafs besonders in der Nähe von Flüssen, nach Überschwemmungen, auf Ton- und Alluvialboden Malariafieber auftreten. Er war überzeugt, dafs die Sümpfe bei der Entstehung der Krankheit eine vermittelnde Rolle spielten, dafs sie vielleicht auch die Krankheitskeime enthielten. Er selbst sagt: »Wenn es aber Gase nicht sind, die die Entstehung der Malaria veranlassen, wenn Feuchtigkeit an und für sich ihre Entwicklung auch nicht erklärt, an welche anderen Bestandteile als die niederen, also wahrscheinlich pflanzlichen Organismen, die die Sümpfe enthalten dürften, könnte die Erzeugung derselben noch geknüpft werden?«

In seinen Arbeiten weist Thomas[1]) nach, dafs die Verbreitung des Malariafiebers in den einzelnen Stadtteilen sehr verschieden gewesen ist, und dafs die Ursache hierfür in der gröfseren oder geringeren Entfernung derselben von den Flufsbetten und Niederungen, hauptsächlich aber in der schwächeren oder reichlicheren Durchfeuchtung des Bodens gesucht werden mufs. Denn soweit nicht durch Auffüllungen der Boden erhöht worden sei, würden die Niederungen bei hohem Wasserstand der Flüsse regelmäfsig und zum Teil sehr beträchtlich überschwemmt. Thomas hat auch die Wechselfieberfälle in den umliegenden Dörfern zusammengestellt, deren Zahl sich auf 1383 belief. Diese soll aber nicht exakt sein, da ihm nicht alle Fälle bekannt waren. Die bei weitem reichlichsten Fälle zeigte die südwestliche Vorstadt, über die Hälfte schwächer waren die westliche und nordwestliche Vorstadt befallen. Dann folgten Südosten, Süden, Norden. Nordöstliche Vorstadt und Osten hatten die wenigsten Fälle.

Wertvolle Notizen über die Wechselfieber in den folgenden Jahren stellte mir mein hochverehrter Chef, Herr Geheimrat Hofmann, zur Verfügung. Im Jahre 1872—73 stieg die Malaria wieder an und erreichte 1874 ihr Maximum, sowohl in Leipzig als auch aufserhalb der Stadt. Hauptsächlich war der Nordrand der Elsteraue, besonders Möckern, ergriffen. Hier waren in 26 am Elsterrande liegenden Gebäuden allein 55 Fälle, meist Tertianfieber, vorhanden, in einzelnen Häusern waren sogar 5—6 Menschen erkrankt. Auch Gohlis, Wahren, Stahmeln, Lützschena hatten 1874 wieder mehr Malariafieber aufzuweisen. Am Südrande der Aue dagegen, in Schleufsig, Plagwitz, Lindenau, Leutzsch, Ehrenberg, Gundorf kamen 1874 nur vereinzelte Wechselfieberfälle vor. Die Malaria blieb noch 1875—78 hoch in Möckern, Wahren, Gohlis. Im Jahre 1878 waren in Wahren und Stahmeln allein 69 Fälle angezeigt worden. 1879 ging die Morbidität rasch zurück, 1880 wurden nur noch ganz vereinzelte Wechselfieber beobachtet. Todesfälle an Malaria waren im

1) L. Thomas, Archiv der Heilkunde, VII. Bd., 1866, S. 225, 289, 385.

Medizinalbezirk Leipzig sehr selten, in der Zeit von 1872—1878 starben nur 4 Malariakranke.

Wenn wir uns Zahlen von der Wechselfiebermorbidität in Leipzig in neuerer Zeit verschaffen wollen, so sind wir auf die bezirksärztlichen und Krankenhausberichte und auf die Mitteilungen der hiesigen Ärzte angewiesen. Zur Erreichung dieses Zweckes wandte ich mich an das hiesige Gesundheitsamt. Herr Geheimer Medizinalrat Dr. Siegel, Bezirksarzt hiesiger Stadt, und Herr Sanitätsrat Dr. Thiersch hatten die Liebenswürdigkeit mir das statistische Material zu überlassen. Es handelt sich um die Fälle, die in den letzten 20 Jahren dem Bezirksarzte zur Meldung gekommen sind. Vermutlich ist die Zahl der in diesem Zeitraum in Leipzig vorgekommenen Wechselfieber etwas gröfser, da eine Anzeigepflicht der Wechselfieber nicht besteht und ein Teil der Fälle vielleicht nicht diagnostiziert worden ist. Unter den 38 zur Meldung gekommenen Fällen befinden sich 10, bei denen über eine etwaige Einschleppung von auswärts nichts vermerkt ist. Mit grofser Wahrscheinlichkeit wird der eine oder andere hier entstanden sein, um so eher, als die Lage der Erkrankungsorte mit denen übereinstimmt, wo nach Thomas die Häufigkeit der Wechselfieber am gröfsten war, wo sich auch die Wiesen, Waldungen und Sümpfe ausdehnen.

Wie in der Zivilbevölkerung, so waren auch beim Militär noch in neuerer Zeit Malariafälle vorgekommen. Ich verdanke ihre Zusammenstellung der Güte des Herrn Oberstabsarzt Dr. Fichtner, Garnisonsarztes der Garnison Leipzig. In folgender Tabelle sind die Fälle aufgezählt.

Wie die Tabelle zeigt, verteilen sich die Erkrankungen auf die einzelnen Monate wie folgt:

Im Mai	6	Fälle
» Juni	7	»
» Juli	3	»
» August	2	»
» September	1	Fall
Dezember	1	»

Tabelle.

	Jahr	Krankheitsdauer	Patient	Rgt.	Wechselfieberanfall	Ausgang d. Krankh.
1.	1880	1. VII. — 25. VII.	Soldat A.	106	1. VII. 5. 7.	Geheilt und dienstfähig
2.	1880	7. VII. — 17. VII.	Soldat W.	106	1879 Intermittens. 8 VII. 10.	
3.	1881	12. V. — 19. V.	Gefreiter B.	106	8. V. Anfälle anteponierend	
4.	1881	20. V. — 10. VI.	Soldat H.	106	Früher 2mal Wechselfieber. 20. V. 22.	
5.	1881	30. V. — 1. VII.	Gefreiter Ki.	106	3. V. 5. 8. 10. 14.	
6.	1881	8. VI. — 1. VII.	Soldat Oe.	134	9. VI. 11. 12. 14. 16. 18.	
7.	1881	27. VI. — 11. VII.	Soldat K.	106	25. VI auf Schiefsstand erkrankt 28. 29.	
8.	1881	25. VII. — 5. VIII.	Gefreiter Kl.	?	24. VII. 26.	
9.	1882	5. V. — 12. VI.	Soldat Sch.	134	1. V. 3. 4. 6.	
10.	1882	11. V. — 2. VI.	Ök.-Hdw.Sch.	134	10. V. 11. 15.	
11.	1882	24. V. — 10. VII.	Soldat E.	107	24. V. 26. 28. 30. 1. VI. 21. 23. 25.	
12.	1882	7. VI. — 22 VI.	Soldat St.	134	Anfälle seit 3. VI.	
13.	1882	9. VI. — 30. VI.	Soldat K.	106	Tage vorher intermittierend. 8. VII. 10. 12. 14.	
14.	1882	16. VI. — 30. VI.	Soldat B.	106	—	
15.	1882	21. VI. — 5. VII.	Sergeant W.	?	18. VI. 21. 23. 25. 27.	
16.	1882	22. VI. — 1. VII.	Soldat M.	?	19. VI.	
17.	1882	25. VIII. — 31. VIII.	Unteroff. W.	134	1877 Wechselfieber. 20. VIII. 24.	
18.	1882	26. VIII. — 8. IX.	Gefreiter Kl. I	107	25. VIII. 27. 30.	
19.	1882	15. IX. — 20. IX.	Unteroff. Sch.	106	14. IX. 18.	
20.	1895	6. XII. — 22. XII.	Soldat Gr.	107	4. XII. 6. 8. 10. Vor der Einstellung in Rüx u. Colditz (sumpffreie Gegend). War viel an der Mulde gewesen	

Also auch hier die Morbiditätshöhe im Mai und Juni. Wir können wohl mit Sicherheit annehmen, dafs es sich hier um einheimische Wechselfieber handelt, zumal die alten Schiefsstände sich um diese Zeit noch in der sumpfigen Elsteraue bei Wahren befanden. Des weiteren erkrankten nach den Sanitätsberichten des sächsischen Armeekorps an Malaria in Sachsen:

1894—1895	5 Mann	1897—1898	4 Mann
1895—1896	3 »	1898—1899	1 »
1896—1897	4 »	1899—1900	1 »

Wechselfieber einheimischen Ursprungs soll nur ganz vereinzelt aufgetreten sein. Leider ist in den Berichten nicht vermerkt, wieviel Erkrankungsfälle auf die Garnison Leipzig kommen.

Noch vor 2 Jahren hat Herr Prof. Dr. J. Lange, Oberarzt am Diakonissenhause in Leipzig-Lindenau, bei einem zweijährigen Kinde einen einheimischen typischen Tertianafall beobachtet.

Schliefslich hat eine Umfrage bei Herren Kollegen, hauptsächlich bei den in der westlichen und nordwestlichen Umgebung von Leipzig praktizierenden, ergeben, dafs in den 60er und 70er Jahren, besonders in Gohlis, Eutritzsch, Möckern, Wahren, Quasnitz, Böhlitz-Ehrenberg, Lindenau, Plagwitz, Knautkleeberg, noch häufig Wechselfieber vorkamen, dafs aber auch noch in neuerer Zeit, vor 10, 8, 6 sogar 2 Jahren typische einheimische Malariaerkrankungen auftraten, Fälle, bei denen eine Infektion aufserhalb Leipzigs näherer Umgebung auszuschliefsen war.

Wie ich mit gütiger Erlaubnis des Herrn Geheimrat Prof. Dr. Curschmann aus den Krankenjournalen der hiesigen Medizinischen Klinik feststellen konnte, kommen alljährlich in Leipzig eingeschleppte Fälle von Malaria vor.

Aus Vorstehendem haben wir ersehen, dafs in Leipzig und seiner Umgebung das Wechselfieber früher sehr verbreitet war, dafs noch in neuerer Zeit sporadische Wechselfieberfälle hier auftraten und alljährlich eine Reihe eingeschleppter Fälle bei der Gröfse und dem regen Verkehr der Stadt beobachtet werden. Es lag nun die Frage nahe, ob denn auch in der Leipziger Gegend die Überträger der Malaria, die Malariastechmücken oder Anophelesarten noch anzutreffen sind. Vom Vorhandensein der Malariamücken in hiesiger Gegend war, was ich vorausnehmen will, in medizinischen Kreisen nichts bekannt. Eine Unterredung mit Herrn Privatdozent Dr. P. Schmidt, I. Assistenten am Institute, führte zum Entschlufs, nach der das Wechselfieber übertragenden Anopheles-

mücke zu suchen. Meine Nachforschungen begannen in Möckern bei Leipzig, das sich an den Elsterniederungen hinzieht. Nach vergeblichem Suchen in Kellern und Gewölben, wo nur die gewöhnliche Stechmücke, Culex pipiens, gefunden wurde, gelang es mir im Februar 1907 — draufsen war Schneelandschaft — in einem Ziegenstalle in Möckern nicht weit von den Elsterwiesen ein lebendes Anophelesweibchen, Anopheles maculipennis, dessen Leib mit frischem Blute angefüllt war, zu fangen. Im März wurden in demselben Ziegenstall noch 2 weitere Anophelesweibchen, aufserdem 3 Exemplare in einer Wohnung in Möckern, Hallesche Str., ferner je eins in Gohlis, Pölitzstr. und Möckernsche Str. und im Hygienischen Institute lebend vorgefunden. Durch diesen Fund war nun bewiesen, dafs noch jetzt in Leipzig und seiner Umgebung die Überträger der Malaria anzutreffen sind.

Über das Vorkommen der Anopheles in der Leipziger Gegend war, wie oben erwähnt, in medizinischen Kreisen nichts bekannt. Von zoologischer Seite aber erfuhr ich später, dafs die Malariastechmücken zwar gefunden, aber sehr selten wären. Durch die Freundlichkeit des Herrn Reichert, stellvertretenden Vorsitzenden des Entomologischen Vereins »Fauna« zu Leipzig, wurde es mir ermöglicht, die früheren Anophelesfunde, soweit sie zur Kenntnis gekommen sind, genau festzustellen. Es hat sich herausgestellt, dafs bis jetzt nur 2 Exemplare von Anopheles maculipennis gefangen worden sind, und zwar im Jahre 1901 ein Männchen und 1904 ein Weibchen, beide am Fenster einer Wohnung in der Südstrafse in Leipzig. In der zoologischen und entomologischen Literatur scheinen aber über diese Funde keine Angaben gemacht worden zu sein.

Die Anophelesweibchen — denn diese nur stechen und saugen — infizieren sich an Malariakranken, wenn deren Blut geschlechtliche Formen der Malariaplasmodien enthält. Ferner müssen die Malariamücken die Parasiten auch weiter zu entwickeln imstande sein. Durchschnittlich verlaufen bei mittlerer Sommertemperatur (ca. 25° C) 10—20 Tage, bis die beim Blutsaugen aufgenommenen Parasiten in der Mücke zu Sichelkeimen

umgewandelt, in der Speicheldrüse abgelagert und nun infektionstüchtig sind. Bei niedriger Temperatur geht die Entwicklung entsprechend langsamer vor sich. Sinkt die Aufsentemperatur unter 15° C, so hört die Fortpflanzung und Entwicklung der Parasiten in der Mücke auf. Die Inkubationszeit beim Menschen, d. h. die Zeit zwischen infizierendem Mückenstich bis zum Auftreten der Fieberanfälle dauert 10—12 Tage. Saugt nun die Mücke an einem Kranken zu einer Zeit, wo dieser nur ungeschlechtliche Parasiten im Blute hat, so ist eine Infektion eines Menschen nicht möglich.

Wie oben Thomas berichtet und wie wir aus den Lazarettfällen ersehen haben, handelte es sich in Leipzig um Frühjahrsepidemien mit dem Morbiditätshöhepunkt im April, Mai und Juni, also zum Beginne der wärmeren Jahreszeit. Das Auftreten jener Neuerkrankungen kann man sich dadurch erklären, dafs infizierte Anopheles an dunklen warmen Orten (Zimmern und Ställen) überwinterten und die Sichelkeime noch in entwicklungsfähigem Zustande beherbergten, oder dadurch, dafs sie sich im Winter an Rezidivkranken im Beginne einer neuen Fieberperiode infizierten. Heizen in den Zimmern und Erwärmung der Ställe schaffen für die Anopheles ein künstliches Klima, wo unter besonders günstigen Umständen in demselben Hause sogar zur Winterszeit die Krankheitskeime übertragen werden können. Da in den Frühjahrsmonaten die Entwicklung der Mücken in den Brutstätten noch nicht vorüber ist, kommen für die Frühjahrsepidemien doch wohl nur die überwinternden Mücken für die Übertragung der Krankheit in Betracht. In den wärmeren Monaten, wo die Aufsentemperatur hoch und gleichmäfsig ist, können nun auch die im Frühjahr ausgeschlüpften Anopheles Infektionen zu Stande bringen. Wärmere Jahre brachten wohl auch eine Steigerung der Wechselfieber mit sich. Wenn man sich die Frage vorlegt, warum gerade in den Ortschaften zur Rechten der Aue die Malariafieber besonders zahlreich auftraten, so liegt es nahe anzunehmen, dafs sie mit den in der Leipziger Gegend vorherrschenden Westwinden in Verbindung zu bringen sind, die die Mücken auf jene Orte zutragen.

Begab man sich vor ungefähr 15—20 Jahren in Leipzigs westliche und nordwestliche Umgegend, so konnte man noch in reichlicher Anzahl Lachen und alte Flufsläufe in den Niederungen bei Möckern, Wahren, Böhlitz-Ehrenberg, Leutzsch, Gundorf etc. antreffen. Durch die fortschreitende Assanierung des Bodens ist jetzt der gröfste Teil jener Wasserbecken zugeschüttet worden. Doch sind in letzter Zeit durch die Tätigkeit der Ziegeleien wieder mehrere gröfsere und kleinere Lehmlachen und Tümpel entstanden, die geeignet sind, den Mücken zur Brutstätte zu dienen. Nach den neuesten Anschauungen (Ruge[1]) sind es gerade die kleinen ruhigen klaren Wasseransammlungen, die die Malariastechmücken zur Eiablage und Larvenentwicklung bevorzugen. Es ist ja allgemein bekannt, dafs Leipzigs Umgebung ab und zu unter wahren Mückenplagen zu leiden hat; so auch diesen Sommer wieder.

Seitdem Deutschland in die Reihe der Kolonial- und Seemächte eingetreten ist, kommen unsere Beamten und Kaufleute, Matrosen und Soldaten immer mehr mit malariainfizierten Orten in Berührung und schleppen die Krankheit in Deutschland ein. Die im Inlande erworbenen Fieber entstammen meist den Niederungen der Weser und der Ems, den Gegenden um Oldenburg, Ratibor, Graudenz, Glogau, Neisse, Wittenberg, Insterburg und Königsberg. Gerade Leipzig als Messstadt bietet durch seinen riesigen Verkehr malariakranken oder noch mit Malariaparasiten behafteten Personen Gelegenheit genug, als Infektionsquellen zur Verbreitung der Malaria beizutragen. Bei den gegenwärtig in grofsem Umfange unternommenen Erdarbeiten der Leipziger Hauptbahnhofsbauten im Parthengebiete ist es nicht ausgeschlossen, dafs die zahlreich entstehenden Tümpel und Gräben zu Anophelesbrutstätten werden und dafs die Anwesenheit ausländischer Arbeiter, von denen ein grofser Prozentsatz an Malaria gelitten haben mag, den Ausbruch des Wechselfiebers hervorzurufen imstande ist. Meist sind

1) R. Ruge, Einführung in das Studium der Malariakrankh. Jena 1906.

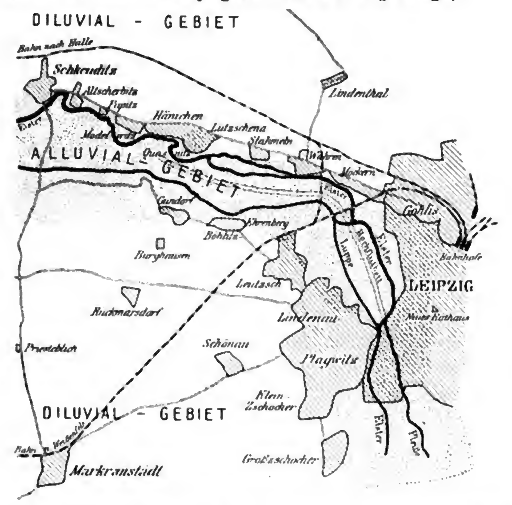
es den Berichten nach gröfsere Erdumwälzungen gewesen, die eine Wechselfieberepidemie zur Folge hatten. So wird auch von C. Wenzel[1]) über eine grofse Malariaepidemie bei der Gründung der Stadt Wilhelmshaven (1860—69) berichtet, wo ebenfalls Erdarbeiten gröfseren Stiles stattfanden. Nach Mitteilung des Herrn Marinestabsarzt Dr. P. Mühlens in Wilhelmshaven kamen nun wieder 1907 nach längerer Pause in den benachbarten Gemeinden Bant, Neuende, Heppens 165 Neuerkrankungen vor mit der Morbiditätshöhe im Juni. Bodenumwälzungen hatten in Bant stattgefunden.

Die bedeutende Abnahme der Malaria in Leipzig und Umgebung ist durch zwei Hauptpunkte zu erklären. Zunächst ist diese Verminderung der assanierenden Tätigkeit der Leipziger Flufsregulierungskommission zu verdanken, die in den 60er Jahren die Regulierung der Flüsse und die Zuschüttung alter Flufsläufe, Lachen, Dorfteiche und Tümpel im Niederungsgebiete ins Werk rief. Die Festschrift »Leipzig in hygienischer Beziehung« 1891 gibt die Geschichte und Pläne der Regulierungsarbeiten. Ferner haben die alljährlichen Überschwemmungen des Elster- und Pleissengebietes durch die Herstellung des Hochflutbettes in der Elsteraue und seine Fortsetzung im Jahre 1880 an Ausdehnung verloren. Zweitens müssen wir den Rückgang der Malariafieber der Anwendung des Chinins zuschreiben. Seitdem das Chinin wesentlich billiger geworden ist und daher entsprechend weitere Verbreitung gefunden hat, sind die einzelnen Fieberfälle auch energischer behandelt worden. Von Interesse ist es zu erfahren, dafs die Kronenapotheke in Gohlis, die damals einzige Apotheke der dortigen Gegend, an bezahlten Rezepten an Chinin abgegeben hat: 1871 48 g. Der Verbrauch stieg dann in den Jahren 1874—78 von 281 g bis auf 445 g und sank darauf etwas. Dafs der Chininverbrauch nicht mehr zurückging, lag an der allgemeinen Anwendung des Chinins bei anderen Krankheiten.

Betrachten wir die geologischen Spezialkarten Leipzigs und der Umgebung, so tritt uns die bemerkenswerte Tatsache ent-

1) C. Wenzel, Prager Vierteljahresschrift für die prakt. Heilkunde. 1870. Bd. IV, S. 28.

gegen, dafs gerade die Orte, wo früher das Wechselfieber in so ausgedehntem Mafse herrschte, das Alluvialgebiet der Elster einsäumen. (Siehe Skizze. Dieselbe ist nach der geologischen Übersichtskarte des Königreichs Sachsen und der geologischen Spezialkarte der Sektion Leipzig-Markranstädt angefertigt.)



Als Alluvium fafst man alle bis in die Jetztzeit fortgesetzten Ablagerungen fliefsender Gewässer zusammen. Dieses alluviale Elstergebiet, das wie ein 2—3 km breites Band von Süden kommend südlich von Gohlis nach Westen zu umbiegt, schneidet das Diluvialgebiet scharf ab und wird zur Linken von den Orten Grofszschocher, Kleinzschocher, Plagwitz, Lindenau, Leutzsch, Böhlitz-Ehrenberg, Gundorf, Burghausen und Rückmarsdorf, zur Rechten dagegen vom östlichen Gehänge des Pleissenbettes in der Gegend des neuen Rathauses (früher Pleissenburg), dann vom Alluvialgebiet der Parthe (Bahnhöfe), von Gohlis, Möckern, Wahren, Stahmeln, Lützschena, Quasnitz, Hänichen, Modelwitz,

Papitz, Altscherbitz und Schkeuditz begrenzt. Die Oberfläche dieses Gebietes wird bei den alljährlichen Überschwemmungen mit dicken Lagen organischer und anorganischer Stoffe bedeckt. Wo sich Bodenvertiefungen vorfinden, bleibt das Wasser lange zurück und gibt zur Bildung von Lachen und Tümpeln, zur Entwicklung tierischen und pflanzlichen Lebens, und besonders zur Entstehung von Mückenbrutstätten Anlafs. So wird es nun klar, warum zu früheren Zeiten, wo noch keine oder nur geringfügige Assanierungsmafsregeln getroffen waren, auch das Wechselfieber gerade in den Orten am Alluvialgebiet verbreitet war. Die Mücken drangen von ihren Brutstätten aus in die nahen Wohnungen ein, infizierten sich an den dort vorhandenen Malariakranken und übertrugen die Keime auf Gesunde. Wenn besonders in der Westvorstadt, wie Thomas mitteilt, und in Quasnitz — wie ich in Erfahrung gebracht habe, soll hier jeder zehnte Mensch an Wechselfieber erkrankt gewesen sein — die Malaria verbreitet war, so kann man sich diese hohe Morbidität wohl nur aus der Lage dieser Orte erklären. Während die übrigen oben genannten Ortschaften auf leicht erhöhtem Boden am Rande des Alluvialgebietes liegen, sind Quasnitz und Lützschena ganz und die Westvorstadt (der Westen von Alt-Leipzig, Lindenau und Leutzsch) zum Teil in ihm gelegen.

Die Blutuntersuchungen der malariaverdächtigen Kranken, die einige Herren Kollegen auf meine Umfrage hin mir zuzuweisen so freundlich waren, fielen mit einer Ausnahme negativ aus. Dieser Fall betraf eine 38 jährige Dame aus Thessalien, die schon vor 4 Jahren einmal Malaria gehabt hatte, und war sicher nicht einheimischer Natur. Die Diagnose konnte durch den Nachweis von Tertianaparasiten (darunter reichlich Gameten) gestellt werden. Da an und für sich schon einheimische Malariaerkrankungen in letzter Zeit selten geworden sind, kann es nicht auffallen, dafs bei den eigenartigen Witterungsverhältnissen des Frühjahrs und Sommers 1907 einheimische Fälle nicht zur Kenntnis kamen. Ich bin der Meinung, dafs gerade 1907 durch die langandauernde kühle, windige und regnerische Witterung im Frühjahr und in den ersten Sommermonaten für die Entwicklung der Mücken sowohl als der Parasiten sehr ungünstig gewesen ist.

Neben einem Beitrage zum Vorkommen einheimischer Malaria und der Malariastechmücken in Deutschland hielt ich es für meine Hauptaufgabe, darauf hinzuweisen, dafs durch den Nachweis der Anopheles in hiesiger Gegend auch fernerhin die Möglichkeit besteht, dafs die früher in Leipzig so heftig auftretende Malaria unter geeigneten Bedingungen wieder ausbrechen und sich epidemieartig verbreiten kann. Ein Beispiel hierfür geben die letzten, aber nur auf Möckern und Gohlis beschränkten Epidemien in den Jahren 1870—72 und vor 1880, die ihren Grund haben in dem Offenliegenlassen von alten Flufsschleifen, besonders in der Nähe des jetzigen Scherbelberges und unterhalb Möckern, dann in den in jenen Jahren entstandenen Ziegeleien bei Gohlis und Möckern, und namentlich in den 1875 vorgenommenen grofsen Erdarbeiten der Thüringer Bahnstrecke. Nun sind es wieder die in grofsem Stileausgeführten Erdarbeiten der Hauptbahnhofsbauten und der Elster—Saalekanalanlagen, die die Entstehung der Mückenbrutstätten begünstigen könnten. Jetzt darf nicht unterlassen werden, nach Möglichkeit alle alten Flufsläufe und Lachen zuzuschütten, alle stehenden Gewässer abzuleiten und eine Entstehung unnötiger Wasseransammlungen besonders im Gebiete der Hauptbahnhofsbauten zu verhüten. Nach C. Flügge[1]) lassen sich die im Keller überwinternden Mücken durch systematische Anwendung von Räucherungen und Abbrennen vernichten. Zur Larventötung im Wasser sind in neuerer Zeit besonders Saprol, Petroleum, Formalin und gewisse Anilinfarben (Larvicid) empfohlen worden. Wenn auch ein gänzliches Ausrotten der Anopheles in absehbarer Zeit unwahrscheinlich ist, so wird doch dieVerminderung ihrer Zahl einen weiteren Fortschritt bedeuten. Im vorigen Jahre ist dem Rate der Stadt Leipzig ein Projekt über die Regulierung der Wasserläufe im Westen Leipzigs zugegangen und eine Skizze desselben der Nr. 55 (24. Febr. 1907) der Leipziger Neuesten Nachrichten beigegeben worden. Die Regulierung besteht in einer Vertiefung des jetzigen Hochflut-

1) C. Flügge, Grundrifs der Hygiene 1908. VI. Aufl.

bettes, von Grofszschocherscher Flur bis zur Nahle, dem Verbindungsflusse zwischen Elster und Luppe. Die Ausführung dieses Projekts würde durch die Beseitigung der Überschwemmungen unserer Stadt in hygienischer Beziehung von hohem Nutzen sein. Von grofser aetiologischer Wichtigkeit ist die Anwesenheit von Malariakranken und Rekonvaleszenten, die bei den Bauten beschäftigt sind oder zur Mefszeit und zum Besuch sich hier aufhalten. Es konnte nachgewiesen werden, dafs in Leipzig alljährlich Malariafälle vorkommen und noch vor 2 Jahren ein sicher einheimischer Fall beobachtet wurde. Der Zweck dieser Arbeit wäre erreicht, wenn die Herren Kollegen in der Praxis künftighin ihr Augenmerk auf Malariafälle, besonders die einheimischen, richten würden und eventuell zur Diagnose die Hilfe der bakteriologischen Untersuchungsstation in Anspruch nehmen wollten, die die Blutuntersuchungen auf Malariaparasiten bereitwilligst übernehmen wird. Besondere Wichtigkeit wäre den fieberhaften Krankheiten der Kinder beizulegen, bei denen die Malaria klinisch nicht immer leicht zu diagnostizieren ist. Als nach R. Koch in den Tropen die Kinder systematisch auf das Vorhandensein von Parasiten untersucht wurden, stellte es sich heraus, dafs sie in überaus grofser Zahl infiziert waren; denn dort, wo die Malaria endemisch ist, sind vor allem die Kinder erkrankt, und dort mufs man, wenn sich für die Entwicklung der Malariaparasiten besonders günstige Umstände einstellen, jederzeit auf den Ausbruch einer Epidemie gefafst sein. (R. Koch).

Am Schlusse meiner Arbeit kann ich nicht umhin, meinem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat Hofmann, für die wertvollen Mitteilungen und Ratschläge, Herrn Privatdozent Dr. P. Schmidt, der mir mit seinen Erfahrungen fördernd zur Seite stand, und den Herren praktischen Ärzten, die mich durch Mitteilungen unterstützten, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung III.

Von

Dr. Max Schottelius,
Professor der Hygiene.

(Aus dem Hygienischen Institute der Universität Freiburg i. Br.)

Kein Problem der Ernährungsfrage hat eine gröfsere praktische Bedeutung als das über die Anteilnahme der Darmbakterien an den Vorgängen der Ernährung.

Die Rolle, welche die Drüsensäfte von der Mundhöhle an bis in den Darmkanal hinein für die Verdauung der Speisen übernehmen, ist bekannt; aber erst in der neuesten Zeit wird berücksichtigt, dafs der Darmkanal aller Tiere und auch der des Menschen von einer ungezählten Masse von Bakterien bevölkert ist, welche durch ihre Lebenstätigkeit die Zusammensetzung des Darminhaltes beeinflussen.

Nicht nur die Ausscheidungsprodukte der Körperzellen — die Drüsensäfte — sind mafsgebend für die Umsetzung der Ingesta, sondern man hat im fördernden und im schädigenden Sinne auch mit den Darmbakterien zu rechnen. Die Ernährungsfrage ist aus dem physiologisch-chemischen Stadium hinausgewachsen und ist zu einer biologischen Frage geworden im weitesten Sinne des Wortes insofern, als sie die Abhängigkeit des tierischen und des menschlichen Lebens von niederen Organismen und damit die Solidarität aller Lebewesen erweist.

Die Schlufsfolgerungen, welche aus dieser Tatsache für die Forschung sich ergeben, liegen auf der Hand: Art, Menge und

Wirkung der Darmbakterien des Menschen müssen systematisch untersucht und ihr Einflufs auf die Bestandteile der Ingesta sowie auf die Resorptionsvorgänge müssen von Fall zu Fall geprüft werden. Eine gegenseitige Anpassung des Organismus und der Darmbakterien hat im Hinblick darauf, dafs das Zusammenleben seit unvordenklichen Zeiten besteht, unzweifelhaft stattgefunden, und wir dürfen wohl eine Gleichgewichtsstellung zwischen Menge und Art der Darmbakterien einerseits und Lebensenergie der Körperzellen anderseits als den Normalzustand des funktionierenden Darmrohres bezeichnen. Inwieweit bei dieser Gleichgewichtsstellung von seiten der Darmbakterien Reize ausgeübt, vom Körper aufgenommen, weitergegeben oder ausgeglichen werden, inwieweit die Darmbakterien die Nährwerte durch Vorverdauung leichter assimilierbar machen, das sind Spezialfragen, deren Bearbeitung bereits erfolgreich begonnen ist.

Organismus und Darmbakterien — normalerweise in Gleichgewichtsstellung befindlich — sind mannigfachen Energieschwankungen unterworfen, welche für gewöhnlich wohl bis zu einem gewissen Grade ausgeglichen werden, welche aber auch zu vorübergehenden oder dauernden Störungen des Gleichgewichts und damit zu »Krankheit« führen können.

Erhebliche Verdienste um die Förderung unserer Kenntnisse von der Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung hat sich Moro[1]) erworben, welcher auf Grund einer grofsen Reihe methodisch durchgeführter Untersuchungen seine Erfahrungen für die praktischen Zwecke der Säuglingsernährung verwertet hat. Zahlreiche andere Autoren haben ebenfalls die physiologische und pathologische Bedeutung der Darmbakterien in den letzten Jahren zum Zweck ihrer Untersuchungen gemacht und sind zu dem Resultat gelangt, dafs der durch die Bakterien ausgelöste Stoffumsatz im Darmrohr für die Gesundheit und für das Leben des Organismus mafsgebend ist.

1) Moro, Jahrbuch f. Kinderheilkunde 1905 und 1906.
» Bericht d. Naturforscherverѕ. in Meran 1905 u. Stuttgart 1906.
» Brüsseler Kongrefs für Säuglingsfürsorge 1907.

Die einschlägige Literatur findet sich mehrfach, so bei Kohlbrugge[1]), Baumgarten[2]) u. a., zusammengestellt, so dafs ich mich hier nur auf einige wenige Autoren näher beziehen will, deren Anschauung für die Beurteilung des gegenwärtigen Standpunktes der Frage von besonderem Interesse ist. Strafsburger[3]) ist bezüglich der Bedeutung der normalen Darmbakterien der Ansicht, dafs »die von Natur getroffene Einrichtung eine Art von Symbiose bedeutet, mit der wir zufrieden sein können«, und »dafs wir trachten müssen, unsere Darmbakterienflora in möglichst normaler Zusammensetzung und normalen Mengenverhältnissen zu erhalten«. Für die Zusammensetzung des Bakteriengehaltes der Fäzes ist es nach den Untersuchungen Lissauers[4]), welcher bei Rubner gearbeitet hat, gleichgültig, ob vegetabilische oder animalische Nahrung aufgenommen wird.

Nach Conradi und Kurpjuweit[5]) wird die übermäfsige Wucherung der Darmbakterien durch Selbstvergiftung der pathogenen Arten (Autotoxine) gehemmt; es dominieren die nützlichen physiologischen Darmbakterien, namentlich das Bacterium Coli, für welches Kohlbrugge[6]) den Processus vermiformis als physiologisch gesicherte Kulturstätte in Anspruch nimmt. Übrigens schreibt Kohlbrugge dem Magen- und Darmsaft eine hohe antimykotische Wirkung zu, und besonders der die Ingesta einhüllende Schleim habe eine Autosterilisation des Dünndarms zur Folge. Daher sei auch der leere Dünndarm steril. Nur »wo Ingesta sind, dort sind auch Bakterien«.

Mereskowsky[7]), der die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal in langen Untersuchungsreihen studiert und eingangs seiner Arbeit nur Enzyme des Organismus, Magen- und Darmdrüsensäfte für die Verwertung der Ingesta heranzieht, kommt

1) Kohlbrugge, Zentralbl. f. Bakter., XXX, 1.

2) Baumgarten, Jahresbericht.

3) Strafsburger, Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 52.

4) Lissauer, Arch. f. Hygiene 1906, Bd. 58, Heft 2.

5) Conradi u. Kurpjuweit, Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 37 u. Nr. 45.

6) Kohlbrugge, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXIX u. XXX, 1.

7) Mereskowsky, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXXIX, 4.

doch zu dem Schlufs, dafs den azidophilen Darmbazillen eine wichtige biologische Bedeutung zuzuschreiben sei; ähnlich stellt Tissier[1]) die säurebildenden Darmbazillen — den Bacillus coli und lactis aerogenes — als fäulnishemmende Bakterien den pathogenen gegenüber. Über ähnliche Ergebnisse berichtet Jacobson.[2])

Horowitz[3]) experimentierte an Hunden, denen er in verschiedenen Darmteilen Fisteln anlegte und aus diesen jeweils das Untersuchungsmaterial entnahm. Er kommt nach Studium der in dieser Weise gezüchteten aeroben Bakterien zu dem Schlufs, dafs »die Rolle der Bakterien, obgleich sie, wie sich aus ihrer geringen Zahl vermuten läfst, keine sehr bedeutende ist, dennoch augenscheinlich kaum bezweifelt werden dürfte«. Dabei weist Horowitz in jedem Milligramm am Ende des Dünndarms 500 entwicklungsfähige Aerobier nach — also 500000 im ccm —, das ist doch immerhin eine nicht gerade »geringe« Zahl.

Neben den Untersuchungen, welche bei höheren Tieren und besonders beim Menschen die Erforschung der Bedeutung der Darmbakterien zum Zweck haben und die Ergebnisse für die Ernährung des Menschen — namentlich für die der Säuglinge — praktisch nutzbar zu machen suchen, geht eine andere Reihe von Autoren einen anderen Weg und verfolgt die gleiche Frage durch Untersuchung des Darmes niederer Tiere auf das Vorhandensein und die Funktion von Darmbakterien.

Die sonderbare Behauptung Lewins[4]), dafs der Darm der Tiere in den arktischen Zonen bakterienfrei sei, wurde mehrfach auf Grund von Kontrolluntersuchungen als unrichtig zurückgewiesen. Zuerst durch die Ergebnisse der Expedition des Fürsten von Monako (Chauveau), dann durch die Expedition der Belgica[5]) (Bericht von Racovitza und Cantacuzere) und end-

1) Tissier, Thèse Paris 1900 und Annales de l'Institut Pasteur 1908, p. 189.

2) G. Jacobson, Annales de l'Institut Pasteur 1907, p. 300.

3) Horowitz, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, LII, 1907.

4) Lewin, Skand. Arch. f. Physiologie, XVI, 1904.

5) Expédition Antarctique Belge, Anvers 1906.

lich durch Charcot[1]) von der französischen Expedition. Übrigens müssen schon allgemeine Überlegungen über die Beziehungen der Ernährung der höheren warmblütigen Tiere der Polarländer zu den Lebensbedingungen der niederen in den warmen Meeresströmungen lebenden Tiere zu der Erkenntnis führen, dafs auch in den arktischen Zonen animalisches Leben ohne Bakterien nicht bestehen kann.

Diese Anschauung wurde demnächst durch weitere experimentelle Untersuchungen bestätigt; so durch O. Metschnikoff[2]) für Froschlarven und durch E. Moro[3]) für die Larven von Telobatus fuscus. Auch die Versuche von Couvreur[4]) sind in gleichem Sinne zu verwerten: Couvreur experimentierte mit Seidenraupen und fand, dafs dieselben vor dem Einspinnen ihren Darm entleeren und dafs die Bakterien, welche trotzdem noch im Darm zurückbleiben, während der Einpuppung verschwinden, so dafs im Darm des ausgeschlüpften Schmetterlings nur noch ganz vereinzelte Bakterien und Hefezellen vorhanden sind. Also: solange das Tier als Raupe wächst, führt es Bakterien im Darm; während der Umwandlungsperiode im Kokon sistiert das Wachstum und die Bakterien verschwinden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen von Portier an Minierlarven[5]) sind nicht eindeutig, indem Portier bei einigen Arten bakterienfreie, bei anderen, welche offene Miniergänge anlegen, bakterienhaltige Exkremente fand.

Immerhin ist auch für Kaltblüter und für niedere Tiere als Prinzip festgestellt, dafs im tractus intestinalis stets Bakterien vorhanden sind und dafs ohne Bakterien kein Wachstum stattfindet.

Um so auffallender mufs es erscheinen, wenn in der neueren Literatur die grundlegenden Versuche über die Bedeutung der

---

1) La Géographie, Bulletin de la Société de Géographie, XI, 1905.

2) Annales Pasteur 1901.

3) Moro, Der Schottelius'sche Versuch am Kaltblüter. Jahrbuch für Kinderheilkunde, LXII, 1905.

4) Compt. Rend., LXI, 1906.

5) Compt. Rend., LVII.

Darmbakterien für die Ernährung vielfach mifsverstanden und unrichtig wiedergegeben werden. Fast scheint es, als ob sonst kompetente Autoren in dieser Frage die Unterlagen für ihre Beurteilung nicht aus den Originalarbeiten, sondern nur aus Referaten geschöpft hätten.

Ich kann es daher nicht unterlassen, den Gang der Handlung in aller Kürze nochmals festzustellen.

Der Vater des Gedankens, dafs ein Zusammenhang bestehen mufs zwischen Ernährung und Darmbakterien, ist Pasteur, welcher in einem Vorwort zu der im Jahre 1885 der Académie des sciences präsentierten Abhandlung Duclaux'[1]) bemerkte: Souvent, dans nos causeries du laboratoire, depuis bien des années, j'ai parlé aux jeunes savants qui m'entouraient, de l'intérêt à nourrir un jeune animal (lapin, cobaye, chien, poulet) dès sa naissance avec des matières nutritives pures. Par cette dernière expression, j'entends désigner des produits alimentaires qu'on priverait artificiellement et complètement des microbes communs.

Sans vouloir rien affirmer, je ne cache pas que j'entreprendrais cette étude, si j'en avais le temps, avec la pensée préconçue que la vie, dans ces conditions, deviendrait impossible.

In diesen Sätzen ist also erstens festgelegt, dafs Pasteur schon mehrere Jahre vor der Veröffentlichung der Duclaux-schen Arbeit die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung der Tiere erkannt hatte und zweitens, dafs er das tierische Leben ohne Darmbakterien für unmöglich hält.

Ich selbst erinnere mich noch sehr wohl an diese lehrreichen »Causeries du laboratoire«, an denen ich im Jahre 1886 teilnehmen durfte — damals noch in dem alten Laboratorium der École normale —, und ich weifs mich bestimmt der oben zitierten Gedanken zu erinnern, in denen der grofse Gelehrte mit der klaren Ruhe des Genies die Stellung der niedersten Lebewesen zum Menschen kennzeichnete.

Das war der Grund, weshalb ich der Meinung Nuttalls und Thierfelders, welche die Möglichkeit des tierischen Le-

1) Duclaux, Compt. Rend., t. 100, p. 66.

bens ohne Darmbakterien proklamierten, entgegentreten mufste: ich wollte die Ansicht Pasteurs von der Notwendigkeit der Darmbakterien für die Ernährung der Warmblüter experimentell beweisen, so wie Pasteur das als wünschenswert bezeichnet hatte.

Es kann kein Zweifel darüber sein, dafs meine Versuche am Hühnchen denen von Nuttall und Thierfelder am Meerschweinchen diametral gegenüberstehen mufsten; das ist auch in den Originalarbeiten klar ausgesprochen. Nuttall und Thierfelder[1]) schreiben: »Die Frage, deretwegen die Experimente unternommen wurden, ist also in dem von uns erwarteten Sinne entschieden worden: die Anwesenheit von Bakterien im Darmkanal ist für das Leben der Meerschweinchen, also auch der anderen Tiere und der Menschen **nicht** erforderlich.«

Und ferner als Ergebnis ihrer zweiten Versuchsreihe: »Die beiden Doppelversuche bestätigen weiterhin den schon aus unseren ersten Experimenten abgeleiteten Satz, dafs Tiere **ohne** Bakterien im Verdauungskanal zu leben und zu wachsen vermögen.[2])«

Dem gegenüber komme ich zu dem Schlufsergebnis:[3])

»Jedenfalls zeigen die vorstehenden Versuche, dafs eine Ernährung ohne Bakterien bei Hühnchen **nicht** stattfindet«. Und ferner als Ergebnis meiner zweiten Versuchsreihe:

»So viel steht jetzt schon fest, dafs sowohl für das Leben der Pflanzen, als auch für die Ernährung der Wirbeltiere und für den Menschen die Tätigkeit der Darmbakterien notwendig ist.[4])«

Ohne meine Beweisgründe, welche in den beiden zitierten Abhandlungen enthalten sind, hier zu wiederholen, möchte ich

1) Zeitschr. f. physiolog. Chemie, XXI.
2) Zeitschr. f. physiolog. Chemie, XXII.
3) Arch. f. Hygiene, XXXIV.
4) Arch. f. Hygiene, XLII.

nur feststellen, dafs Nuttall und Thierfelder ihre Ansicht darauf stützen, dafs es ihnen gelungen ist, ein steril geborenes Meerschweinchen zehn Tage lang am Leben zu erhalten und durch Verfüttern steriler Milch eine Gewichtszunahme von 28 g zu erzielen.

Neugeborene Meerschweinchen leben — vom Muttertier entfernt und steril aufbewahrt — 3—5 Tage und verlieren dabei an Gewicht bis zu 20 g, je nach Verdunstungsmöglichkeit. Stellt man solchen, sofort nach der unter aseptischen Kautelen erfolgten Geburt, isolierten Meerschweinchen Wasser zur Verfügung, bzw. tränkt man dieselben mit sterilem Wasser, so leben die Tiere 8—10 Tage lang. Ich habe diese Versuche, welche kein allgemeines Interesse haben, nicht weiter fortgesetzt, zweifele aber nicht, dafs man auch noch länger als 10 Tage lang steril gehaltene neugeborene Meerschweinchen durch Wasserzufuhr am Leben erhalten kann. Es kam mir nur darauf an, zu zeigen, dafs die von Nuttall und Thierfelder erzielte Lebensdauer von 10 Tagen nicht mafsgebend ist, um irgend einen Schlufs für die Ernährung daraus zu ziehen.

Auch die von Nuttall und Thierfelder erzielte Gewichtszunahme ist nichts anderes als das Gewicht der in dem Darmkanal des Tieres befindlichen nicht resorbierten Milch. In dem von Nuttall und Thierfelder[1]) publizierten Obduktionsprotokoll heifst es wörtlich: »Der Dünndarm war leer, enthielt nur etwas Schleim, der Dickdarm gelbe, breiige Massen; der Blinddarm war stark aufgetrieben und mit brauner, käsig geronnener Flüssigkeit schwappend gefüllt.«

Nach meinen, an je 12 Meerschweinchen gemachten Erfahrungen beträgt das Gewicht des Inhaltes von Blind- und Dickdarm bei einem neugeborenen Meerschweinchen 0,5—1,0 g, bei einem 10 Tage alten Meerschweinchen 12—15 g; aber der Darm ist nicht »schnappend gefüllt«.

Wir gehen wohl nicht zu weit in der Annahme, dafs das Gewicht der nicht resorbierten, frei im Darmrohr befindlichen

1) a. a. O., Bd. XXII, p. 68.

Massen bei den Nuttall-Thierfelderschen Meerschweinchen mehr als 28 g betrug. 28 g ist aber das nur in einem Fall erzielte Maximum der gesamten Gewichtszunahme der Nuttall-Thierfelderschen Meerschweinchen; bei den drei anderen Tieren wurden nur 5,5, 14 und 16 g Gewichtszunahme erzielt!

Daraus folgt, dafs überhaupt keine Gewichtszunahme bei den mit steriler Milch ernährten Meerschweinchen stattgefunden hat, sondern dafs die Tiere an Körpergewicht abgenommen haben. Geronnen war die verfütterte Milch im Darmkanal, aber sie war nicht verdaut. Dazu sind eben die Darmbakterien nötig.

Um eine echte Gewichtszunahme — eine Stoffzunahme des Körpers — zu konstatieren, mufs nicht nur das aufgenommene Wasser vom Gesamtgewicht des Versuchstieres abgezogen werden, sondern ebenso der zu dem physiologischen Mekonium hinzugekommene Darminhalt. Bei meinen Versuchen hat immer nur eine Gewichtsabnahme stattgefunden. Eine Ausnahme stellte sich in der ersten Versuchsreihe für die ersten Lebenstage der steril genährten Hühnchen ein, indem damals eine — mir zunächst unerklärliche — Gewichtszunahme konstatiert wurde. Es hat sich herausgestellt, dafs diese Zunahme dem Gewicht der gierig aufgepickten sterilen Hirsekörnchen und Eierstückchen entspricht. In der Folge, wenn der Darmkanal einmal gefüllt ist, gleicht sich dieser Gewichtsgewinn durch das Gewicht der ausgeschiedenen Dejektionen aus, und durch die Aufzehrung der Körpergewebe tritt dann der Hungerverlust ein.

Ganz gewifs wären Nuttall und Thierfelder zu den gleichen Resultaten und damit zu den gleichen Schlufsfolgerungen gelangt wie ich, wenn sie nach diesen Gesichtspunkten Gewichtsgewinn und -verluste ihrer Versuchstiere gebucht hätten.

In den neueren Literaturangaben wird nun die Sache vielfach so dargestellt, als seien meine Versuche nur die weiteren Ausführungen der Nuttall- und Thierfelderschen Experimente oder gar eine Bestätigung derselben.[1]) Damit tut man

1) Kohlbrugge, Zentralblatt f. Bakt., Bd. 29 u. 30; Conradi und Karpjuweit, Münch. med. Wochenschr. 1905, 45 u. andere. Auch Strafs-

weder Nuttall und Thierfelder, noch mir, am wenigsten aber der Sache selbst einen Gefallen: scheint es doch, als ob neuerdings im Institut Pasteur selbst eine Schwenkung in dieser Frage sich vorbereite, als ob die von Pasteur — trotz seines »sans affirmer rien« — und von Duclaux so einleuchtend vorgetragenen Lehren über die Bedeutung der Bakterien für die Ernährung erschüttert werden sollten.

Kein Geringerer als E. Metschnikoff hat in den letzten Jahren mehrfach den schädigenden Einflufs der Darmbakterien, namentlich derjenigen des Dickdarmes, hervorgehoben und auf die üblen Folgen der Resorption von Fäulnisprodukten aus dem Darm hingewiesen.

Unter Anführung von Beispielen aus allen Gebieten der Naturwissenschaft und des ärztlichen Wissens sucht der geniale Forscher den Nachweis zu erbringen, dafs nicht nur der processus vermiformis, sondern dafs ganze Abschnitte des tractus intestinalis, speziel der gesamte Dickdarm unnütz sei und auf irgendeinem Wege — eventuell chirurgisch — aufser Funktion gesetzt werden sollte . . . . plus un tube digestif est peuplé de microbes, plus il devient une source de mal, capable d'abréger l'existence. [1])

»Qui pouvait soupconner, il y a encore peu d'années, qu'on arriverait à enlever l'estomac et à éliminer presque tout le gros intestin et une grande partie de l'intestin grêle? La chirurgie n'a pas encore dit son dernier mot. . . . . Nous payons par nos souffrances les avantages que donnaient à nos ancêtres les entrailles peuplées d'une flore microbienne très riche. Cette flore est la cause principale de la trop courte durée de notre vie qui s'éteint avant d'avoir atteint son but. [2])

---

burger (Münch. med. Wochenschr. 1903, 52) übersieht, dafs ich eigens darauf hinweise, dafs den steril genährten Hühnchen das Futter »in fein zerteiltem Zustande« verabreicht wurde. O. Cohnheim, Die Physiologie der Verdauung und Ernährung. Berlin 1908, S. 293.

1) E. Metschnikoff, Essais optimistes, Paris 1907.

2) Metschnikoff, Memoires and proceedings of the Manchester literary and philosophical. Society 1900—1901. Vol. 45, part II.

Die Deduktion Metschnikoffs stützt sich darauf, dafs bei vielen Säugetieren, welche einen grofsen Dickdarm haben, die Lebensdauer eine kurze ist und dafs anderseits viele kleinere Wirbeltiere — namentlich die Vögel — keinen Dickdarm, aber eine lange Lebensdauer haben.

Aus der ärztlichen Wissenschaft führt Metschnikoff diejenigen Fälle an, bei denen durch Anhäufung und Retention grofser Kotmassen im Darm Krankheit entsteht infolge von Autointoxikation oder von Autoinfektion, und ferner Fälle, in denen die spontane oder künstliche Ausschaltung grofser Darmstücke, ja sogar des ganzen Dickdarms nicht nur ohne Schädigung des Allgemeinbefindens ertragen wurde, sondern sogar einen besseren Gesundheitszustand der betreffenden Personen zur Folge hatte.

Besonders eingehend würdigt Metschnikoff zur Unterstützung seiner Ansicht, dafs die Darmbakterien schädlich seien, die Ergebnisse der experimentellen Versuche von Nuttall und Thierfelder gegenüber meinen Versuchen an steril gezüchteten Hühnchen. Nach den oben gemachten Darlegungen habe ich aber bewiesen, dafs diese Bezugnahme auf Nuttall und Thierfelder gegenstandslos ist, weil deren Versuche das Gegenteil von dem beweisen, was bewiesen werden sollte.

Meinen eigenen Versuchen hält Metschnikoff entgegen, dafs die Sterilisierung der angebrüteten Eier mit Sublimat die Lebenskraft der Hühnchen derart geschädigt haben könne, dafs eine normale Ernährung nach dem Ausschlüpfen nicht mehr möglich war, oder dafs vielleicht die komplizierte, den Hühnchen verabreichte Nahrung nicht resorbiert werden konnte.

Metschnikoff übersieht bei diesen Einwänden, dafs aus den genau gleich behandelten Eiern der Kontrollhühnchen ausnahmslos vollauf lebenskräftige Tiere ausschlüpften, dafs ferner die Nahrung der Kontrollhühnchen und der Versuchshühnchen ganz die gleiche war und aus denjenigen Nahrungsmitteln bestand, welche in den gewerbsmäfsig betriebenen Züchtereien den Hühnchen verabreicht werden (Hirse, feingehacktes,

hartgekochtes Ei, zerstofsene Eierschalen und Sand). Unter diesen Bedingungen haben sich sämtliche Kontrolltiere stets normal, kräftig entwickelt, und nur und ausnahmslos die ohne Bakterien ernährten Hühnchen starben.

Es ist nicht einzusehen, weshalb die Sterilisation der Eier mit Sublimat ausschliefslich den Versuchseiern geschadet haben soll und niemals den Kontrolleiern und weshalb die normale Nahrung junger Hühnchen nur für die Versuchstiere unverdaulich sein soll, den Kontrolltieren aber wohlbekömmlich.

Der einzige Unterschied zwischen beiden war eben das Sein oder Nichtsein der Darmbakterien: ohne Darmbakterien verhungern die Hühnchen und mit Darmbakterien gedeihen sie.

Dasselbe gilt — wie Nuttall und Thierfelder gezeigt haben — auch für die Meerschweinchen.

Ich möchte mich nicht in eine Polemik einlassen gegenüber Metschnikoffs geistreichen allgemeinen Erwägungen, mit denen er die Schädlichkeit der Darmflora beweisen will, denn ich fühle mich den umfassenden zoologischen und biologischen Kenntnissen, welche Metschnikoff zur Verfügung stehen, nicht gewachsen. Immerhin kann ich es nicht unterlassen, auf einige Tatsachen hinzuweisen, welche doch mit Metschnikoffs Hypothese von der Schädlichkeit der Darmbakterien und des Dickdarmes in einem gewissen Widerspruch stehen: Alle die Tiere, welche Metschnikoff nennt, um zu zeigen, dafs es von Natur bakterienfreien Darminhalt gibt, gehören nicht zur Gruppe der Warmblüter oder gar zu den Säugetieren, sondern es handelt sich um niedere Würmer und um Insekten. Über den Chemismus oder die Biologie des Verdauungsprozesses bei den Insekten ist aber noch sehr wenig bekannt, nur so viel steht wohl fest, dafs dieser Vorgang mit dem Verdauungsprozefs der höheren Tiere nicht verglichen werden kann, da bei den Insekten ganz andersartige Fermente und Zellsaftwirkungen in Betracht kommen als bei den Warmblütern. Wenn es schon bedenklich ist, die Lebensvorgänge der höheren Tiere ohne weiteres mit denen des Menschen zu identifizieren, so hinkt die

Sicherheit des Vergleichs um so mehr, je weiter man sich von der Eigenart des Objektes entfernt. Metschnikoff meint, dafs der stark ausgebildete Dickdarm als Residuum aus jener Zeit stamme, zu welcher die häufige Ablage der Dejektionen eine Gefahr oder ein Hindernis für die rasche Fortbewegung des Individuums abgegeben habe. Jetzt sei diese Epoche längst vorüber und der Dickdarm als Stapelplatz von Dejektionen nicht mehr zeitgemäfs und wegen der resorbierbaren Toxine der Gesundheit direkt schädlich.

Das stimmt aber nicht mit den vorliegenden Tatsachen, und die von Metschnikoff angeführten Ausnahmen können auch nicht als Beweis für ein bestehendes Naturgesetz gelten. Tatsächlich haben die Menschen aller Rassen bis auf den heutigen Tag einen wohl ausgebildeten Dickdarm und beherbergen darin eine typische Bakterienflora. Man sollte doch meinen, dafs auf naturgesetzlichem Wege zur rechten Zeit die Verkümmerung eines nutzlosen Körperteils »spontan« vor sich gehen würde und dafs die entwicklungsgeschichtliche Vervollkommnung des Menschen nicht abhängig sei von den Eingriffen der Chirurgen und der Bakteriologen.

Die Nützlichkeit und Notwendigkeit des Dickdarmes und des Ballastes im tractus intestinalis läfst sich aber auch direkt beweisen.

Ich habe bereits früher darauf aufmerksam gemacht, dafs die anatomischen Prinzipien der Ernährung der Pflanzen und der Tiere nicht so sehr voneinander abweichen, als es den Anschein hat. Die Nahrung aufsaugenden Wurzeln des menschlichen Organismus liegen an der inneren Oberfläche des Körpers in Form der Darmfalten und Darmzotten. Um diese in Funktion zu setzen, mufs das Darmrohr einen gewissen Füllungszustand haben, damit die einzelnen Zotten hineinhängen in den Speisebrei wie die Wurzeln der Pflanze in das nahrhafte Erdreich. Ein Ersatz der voluminösen Nahrung durch Extrakte und vollständig resorbierbare Stoffe mufs zur Verkümmerung der anatomischen Aufnahmeapparate — der Darmzotten — führen; denn nur die Übung und die Arbeit erhält den Körper gesund, und auch die

Muskeln des Darmrohres und der Darmzotten müssen arbeiten, oder sie degenerieren.

Es ist mir sehr wahrscheinlich, dafs ein grofser Teil von Darmkrankheiten darauf zurückzuführen ist, dafs den Körper dauernd sog. »leicht verdauliche« Nahrung zugeführt wird, Nahrung, welche »vollständig verdaut« werden kann und keinen Ballast gibt. Es bleiben dann im Darmrohr, und zwar an der hierfür anatomisch geeignetsten Stelle — im Coecum — die geringen schlackenartigen Reste solcher Nahrung liegen und können ihres geringen Volumens wegen von den Darmmuskeln nicht gegriffen und nicht fortgeschafft werden. Anders, wenn dem Darmrohr voluminöse Nahrung geboten und den Darmzotten Gelegenheit zur physiologischen Arbeit gegeben wird, dann kann das Darmrohr anatomisch funktionieren und die Ingesta können vom Darm durchknetet und weiterbefördert werden. Die Befunde bei Typhlitisoperationen bestätigen die Richtigkeit dieser Anschauung, und ebenso stimmt damit die Tatsache, dafs die ländliche Bevölkerung, welche durchschnittlich auf voluminöse vegetabilische Nahrung angewiesen ist, an den entsprechenden Darmkrankheiten erheblich weniger leidet als die Städter. Bei Naturvölkern, welche ausschliefslich von Pflanzenkost sich nähren, scheint Typhlitis und Appendicitis überhaupt nicht vorzukommen.

Was nun die in dem Contentum des Dickdarmes und im Darmkanal überhaupt vorhandene Bakterienflora anbelangt, so können unzweifelhaft von den Darmbakterien schädliche Wirkungen ausgelöst werden. Das ist aber nur eine unter bestimmten Voraussetzungen gegebene Möglichkeit, keine Wahrscheinlichkeit, geschweige denn eine Notwendigkeit. Dagegen spricht schon die Tatsache, dafs bei der überwiegend gröfsten Mehrzahl der Menschen solche Schädigungen nicht eintreten. Auch bei den höheren Tieren, namentlich bei den mit enormem Dickdarm ausgestatteten grofsen Herbivoren, ist von einem schädlichen Einflufs der Bakterienflora des Darmes nichts bekannt. Solche Tiere, z. B. Elefanten, erreichen auch trotz ihres mächtigen Dickdarmes ein ganz besonders hohes Lebensalter.

Wenn man die Frage beantworten sollte, ob nicht vielleicht die bakteriellen Umsetzungen im Dickdarm und sogar das Vorhandensein pathogener Spaltpilze im Darm eine nützliche Bedeutung haben könnten, so wäre daran zu erinnern, dafs die Erwerbung eines Schutzzustandes des Körpers gegen bakterielle Infektionen durch Resorption bakterieller Stoffwechselprodukte vom Darmrohr aus sehr wohl denkbar ist; liegen doch sogar vielversprechende therapeutische Versuche über diesem Wege der Erwerbung einer Immunität bereits vor.[1]

Mit dem Wachstum der Städte, mit dem Dichterwerden der Bevölkerung sind wir in zunehmendem Mafse den Angriffen der menschlich-pathogenen Bakterien ausgesetzt. Die Überwindung dieser Angriffe kann nicht nur auf dem Wege der aktiven Immunisierung durch Überstehen der Infektion erfolgen, sondern gerade dem tractus intestinalis dürfte es vorbehalten sein, den Körper zu immunisieren durch zweckdienliche Ausnutzung der per os in den Darmkanal gelangten pathogenen Organismen. Die Gesetze über die »Anpassung an Gifte« treten auch gegenüber den Bakteriengiften in Kraft: nach Aufnahme der erträglichen Menge des Giftes schliefst sich der Körper gegen ein Übermafs ab und pafst sich allmählich immer gröfseren Dosen an bis zur vollen Immunität.

Diesen nützlichen Zweck für die Erhaltung und Kräftigung der Gesundheit erfüllen sehr wahrscheinlich die nicht ständigen Bakterien des Darmkanals speziell im Dickdarm.

Bevor Metschnikoffs Theorie von der Unzweckmäfsigkeit des Dickdarmes akzeptiert werden könnte, müfste erst erwiesen sein, dafs die Menschen, welche den Dickdarm verloren haben, den bakteriellen Infektionen und Intoxikationen dauernd ebenso kräftigen Widerstand leisten wie die gewöhnlichen Menschen. Vielleicht erleben wir noch die Beantwortung dieser Frage, wenn erst eine gröfsere Anzahl von Personen zur Herausnahme ihres Dickdarmes sich entschlossen hat.

---

1) F. Chvostek, Zur Frage der Immunisierung per os. Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 14.

Inzwischen ist über die weitere Fortsetzung der Versuche zu berichten, welche zum Studium der Ernährungsfrage unter Benutzung steril gezüchteter Hühnchen beitragen sollen.

Nach Feststellung der Tatsache, dafs ohne die Mitwirkung von Darmbakterien die Ernährung steril gezüchteter Hühnchen nicht stattfinden kann, ist die Frage zu beantworten: welche Bedeutung dabei den einzelnen im Darmkanal ständig vorkommenden Bakterienarten zukommt. Es ist wohl denkbar, dafs eine feststehende prozentuale Zusammensetzung der verschiedenen Arten notwendig ist, um den Normalzustand des physiologischen Bakteriengehaltes im Darmrohr zu sichern. Auch der Gedanke, dafs zur besten Verwertung der verschiedenen Nahrungsstoffe im Körper verschiedene Bakterienarten notwendig sind, ist in der Literatur mehrfach zum Ausdruck gekommen. Von vornherein darf es aber auch nicht als ausgeschlossen gelten, dafs kompensatorisch die Arten oder wenigstens manche derselben für einander eintreten können.

Um einen sicheren Angriffspunkt für die weitere experimentelle Bearbeitung der Frage über die Bedeutung der Darmbakterien unter tunlichst einfachen Beobachtungsbedingungen zu gewinnen, sollten also der Reihe nach die einzelnen physiologisch vorkommenden Darmbakterien und ihr Einflufs auf die Nahrungsstoffe im sterilen tierischen Körper geprüft werden. Dabei kommt denn in erster Linie der Bacillus coli communis in Betracht, welcher sich bei allen Warmblütern als ständiger Vertreter der Darmbakterien vorfindet und welcher (unter Berücksichtigung der sonst zu beobachtenden physiologischen Schwankungen der Eigenschaften von Bakterien) bei allen Warmblütern als ein der gleichen Art zugehörender Spaltpilz anzusprechen ist.

Zwar sind bekanntlich beim Menschen die physiologischen Schwankungen der Rasse des Bacillus coli nach der Seite der Typhusbazillen bis zu der von Neifser[1]) beschriebenen de

1) M. Neifser, Zentralblatt für Bakteriologie, XXXVIII, 1906, Beilage S. 98.

Vriesschen Mutation hin so gewaltige, dafs eine umfangreiche Literatur ausschliefslich mit diesem Kapitel der Bakteriologie sich beschäftigt.[1]) Die pathogenetische Bedeutung des Kolibazillus macht das verständlich und derartige Spezialforschungen notwendig.[2])

Aber auch nach der anderen Seite hin, zu der Gruppe der nützlichen Milchsäurebazillen steht der Koli-Bazillus in nahen Beziehungen.

Aus diesen Gründen ist es verständlich, dafs der Bacillus coli communis zur experimentellen Prüfung seines Einflusses auf die Ernährung steril gezüchteter Hühnchen zunächst in Aussicht genommen wurde.

Wenn wir sehen, dafs dieser Spaltpilz so aufserordentlich weit verbreitet ist und in gröfster Menge im Darm aller höheren Tiere vorkommt, so mufs es wünschenswert erscheinen, zum Zweck von Fütterungsversuchen entweder die für die betreffende Tierart eigentümliche Rasse des Bacillus coli zu verwenden oder — wenn man weiter ausholen will — die Stammform des Bacillus coli zu benutzen: diejenige Rasse, welche noch nicht an die speziellen Lebensbedingungen einer bestimmten Tierart angepafst ist, sozusagen die Urform des Bacillus coli.

Diese Urform, wenn eine solche existiert, wäre vielleicht anzutreffen im Innern einfachster niederster Tiere, welche einen Darm besitzen und in demselben symbiotisch mit dem eigenen Organismus verbundene Bakterien beherbergen.

Bei kaltblütigen Wirbeltieren: bei Fröschen, Reptilien und auch bei unseren einheimischen Süfswasserfischen, welche daraufhin untersucht wurden, findet man in der Tat im Darm koliartige Bakterien, welche sich formell und biologisch nur wenig von dem Bacillus coli der warmblütigen Wirbeltiere unterscheiden. Dagegen haben wir bei Insekten keine derartigen Bakterien im Darm gefunden.

Immerhin schien es mir von Interesse zu sein, die Frage des Vorkommens von Darmbakterien bei niederen Tieren weiter

1) Kolle-Wassermann, Handbuch II, S. 404.

2) Burk, Archiv für Hygiene, LXV, S. 235.

zu verfolgen, um diejenigen Bakterien kennen zu lernen, welche als ständige Darmbewohner symbiotisch bei den einfachsten Tierarten auftreten.

Ich hatte Gelegenheit, während der Monate Februar und März v. Js. in der zoologischen Station in Neapel diesbezügliche Untersuchungen vorzunehmen, und möchte zunächst allen denen, welche mich dort bei meinen Arbeiten mit Rat und Tat wirksam unterstützt haben, vor allen dem hochverdienten Direktor des Aquariums in Neapel, Herrn Geheimrat Professor Dr. Dohrn, meinen wärmsten Dank auch an dieser Stelle abstatten.

Bei der Kürze der mir zur Verfügung stehenden Zeit wäre es mir auch nach den freundlichen Unterweisungen, welche ich meinem verehrten Kollegen Herrn Geheimrat Prof. Dr. Aug. Weismann verdanke, gar nicht möglich gewesen, der artenreichen Meeresfauna geeignete Tierarten zu entnehmen, an denen die Beziehungen der Darmbakterien zum Gesamtorganismus am besten studiert werden können.

Ohnehin und trotz der fachmännischen Unterstützung sind meine Mitteilungen nur als Ergebnis der Untersuchung einiger Stichproben aufzufassen, welche vielleicht einen gewissen Einblick in die Beziehungen der Bakterien der Tiefsee zu niederen Tieren gewähren, keinenfalls aber abgeschlossene Untersuchungsresultate darstellen. Um letztere zu gewinnen, bedarf es einer zwar sicher lohnenden, aber jahrelangen Arbeit, zu der mir nicht die nötige Zeit zur Verfügung steht und zu der mir auch die nötigen zoologischen Fachkentnisse fehlen.

Die Fischer der zoologischen Station in Neapel kehren von ihrem ersten Fang meist vormittags zwischen 9 und 10 Uhr zurück, und um diese Zeit wurde mir das Material täglich frisch, so wie es der Tiefsee entnommen war, zugestellt.

Es kamen folgende Tierarten zur bakteriologischen Untersuchung: Julis vulgaris, Gobius minutus, Serranus hepatus, Holoturia tubulosa, Holoturia polii, Doris tuberculatum, Aphrodite aculeata, Echinus microtuberculatus, Strongylocutrotus nodus, Arbacia pustulosa, Lipunculus nudus, Scannius membranaceus, Aplysia punctata, Ophioderma longicanda, Alcyonium palmatum,

Pterotrachea coerulea, Pterotrachea mutica, Amphioxus lanceolatus, Hippocampus brevirostris, Syngnathus acus.

Von diesen Tierarten erwiesen sich einige als besonders geeignet zum Studium der Darmbakterien, so dafs die bakteriologischen Untersuchungen mehr und mehr auf diese wenigen Arten beschränkt wurden. Es waren das der Amphioxus, die Pterotracheen und die Holoturien.

Bei diesen Tieren stellt der tractus intestinalis einen in der Längsachse des Körpers verlaufenden einfachen Schlauch dar, in welchem aber doch die durch die Mundöffnung einströmende Nahrung längere Zeit zurückgehalten wird, so dafs geformte Dejektionen per anum ausgestofsen werden.

Der Gang der Untersuchung war folgender: Das Versuchstier wurde der Länge nach gespalten und aus verschiedenen Teilen des Darmes eine Anzahl mikroskopischer Präparate hergestellt; teils frisch, teils mit den gebräuchlichen Färbemitteln untersucht.

Zur Züchtung der Darmbakterien verwendete ich eine Nährgelatine, welche mit sterilem Seewasser hergestellt war, um den Gehalt des Nährbodens an Salzen den natürlichen Lebensbedingungen der Bakterien tunlichst anzupassen. Von der Anwendung des Plattenverfahrens habe ich sehr bald Abstand genommen, da grofse Mengen von Kulturen sich bequemer herstellen und auch ganz gut weiter verarbeiten lassen, wenn man die infizierte Gelatine in den Reagenzgläschen erstarren läfst. Einen Überblick über Anzahl und Qualität der gewachsenen Kolonien bekommt man auf diese Weise recht gut, man kann dann mit einem Hammerschlag das in sterile Watte eingewickelte Reagenzgläschen sprengen und die zur weiteren Bearbeitung ausgewählten Kolonien aus der Gelatine herausschneiden. Man spart auf diese Weise Zeit, Raum und Apparate.

Bei Amphioxus und bei Pterotrachea suchte ich die als ständige Darmbakterien anzusprechenden Arten von den anderen Bakterien des Darminhaltes noch durch ein besonderes Verfahren zu trennen:

Die frisch eingefangenen, lebenskräftigen Tiere wurden äufserlich mechanisch mittels steriler Baumwolle gründlich abgewaschen bzw. abgerieben. Amphioxus verträgt das sehr gut, bei Pterotrachea mufs man sich auf vorsichtiges Abtupfen des Körpers beschränken. Darauf werden die Tiere mit sterilisiertem Seewasser wiederholt abgespült und schliefslich in ein bakteriologisch verschlossenes Gefäfs mit sterilem Seewasser eingesetzt. Die Tiere verhalten sich darin durchaus wie nicht vorbehandelte lebenskräftige Individuen ihresgleichen. Während der folgenden Tage wird mehrmals täglich — je öfter, um so besser — das sterile Seewasser abgegossen, die Tiere im Innern des bakteriologisch gut abgeschlossenen Gefäfses mit sterilem Seewasser abgespült und das Wasser durch frisches steriles Seewasser ersetzt. Auf diese Weise entleert sich nach und nach im Verlauf von 6—8 Tagen der ganze Darminhalt. Diejenigen Bakterien, welche zuletzt im Darmrohr übrigbleiben, habe ich für die dem Organismus des Tieres am engsten angepafsten gehalten.

Amphioxus hält bis zu 18—20 Tagen, Pterotrachea bis zu 10 Tagen eine derartige Behandlung aus; aber es ist ratsam, die Tiere einzeln in den Gefäfsen unterzubringen; setzt man mehrere zusammen in ein Gefäfs, so fressen sie einander auf und das Experiment wird dadurch unnötig in die Länge gezogen.

Die benutzten Nährböden, Gelatine und Agar, waren — wie oben bemerkt — in ihrem Salzgehalt dem Seewasser des Golfes von Neapel angepafst; von Kultur bei höheren Temperaturen konnte Abstand genommen werden, da es sich ja nur um Kaltwasserbakterien handeln konnte. Prüfung auf anaerobe Bakterien wurde unter Kohlensäure vorgenommen.

Soweit es sich aus den mit dieser Methode gewonnenen Ergebnissen beurteilen läfst, ist der Darm niederer Seetiere arm an verschiedenen Bakterienarten, auch an Quantität steht der Reichtum des Darminhaltes der Seetiere denen der Wirbeltiere nach.

Die Artenarmut des Darmes niederer Seetiere steht im Zusammenhang mit dem gleichen Verhalten des Wassers der Tiefsee und des Planktons.

Es ist kaum anzunehmen, dafs der Grund für diesen Befund in der Untersuchungsmethode zu suchen sei, dafs etwa die unter sehr hohem Druck in der Tiefe lebenden Bakterien unter dem Einflufs des einfachen atmosphärischen Druckes zugrunde gegangen wären. Denn es finden fortwährend Strömungen des Tiefwassers nach oben und von oben nach der Tiefe statt.[1]) Mit diesen Strömungen wird das Plankton in vertikaler Richtung bewegt und damit auch die Bakterien. Auch die Kohlensäureproduktion der Bakterien in der Tiefsee dürfte für die Bewegung der Bakterienleiber in Betracht kommen. Ähnlich wie Hefezellen durch Kohlensäurebläschen in die Höhe gerissen werden, darf man sich auch für die Bakterien die Wirkung der Kohlensäure auf die Bewegung nach oben vorstellen.

So sind die kleinsten, von diesen Strömungen abhängigen Lebewesen schon unter ihren natürlichen Lebensbedingungen grofsen Druckschwankungen angepafst und können daher auch unter dem einfachen atmosphärischen Druck wachsen. Übrigens vertragen ja auch die Tiere selbst, in deren Darm die betreffenden Bakterien angetroffen werden: Amphioxus, Pterotrachea, Holoturien und Echiniden die Druckunterschiede sehr wohl und bleiben monatelang im Aquarium am Leben.

Über die Bakterien des Golfes von Neapel liegt eine Untersuchung von Fr. Sanfelice[2]) vor, welche für unsere Zwecke aber nicht wohl verwertet werden kann, da Sanfelice nur quantitative Bestimmungen in Ufernähe unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses der Kloakenmündungen machte.

In gröfserer Entfernung vom Ufer, dort, wo sich der Einflufs der dicht bevölkerten Küste und der grofsen Stadt nicht mehr geltend macht, beträgt der Bakteriengehalt des Seewassers in einer Tiefe von 500 Meter etwa 50—80 Keime im Kubikzentimeter.

Es wurden im Ganzen nur vier Arten von Bakterien isoliert, welche sich in gleicher Weise sowohl in dem Darm der zur

---

1) Nathanson, Annalen der Hydrographie und maritimen Meteorologie 1906.

2) Bolletino della Società di Naturalisti in Napoli 1889, III.

Untersuchung herangezogenen Tiere fanden, als auch frei im Seewasser lebend.

Von diesen ist ein intensiv schwarz gefärbtes Stäbchen besonders merkwürdig. Die Kolonien desselben, welche bei jeder Untersuchung sowohl im Darminhalt der Tiere als auch im Wasser auftraten, erscheinen am 3. bis 4. Tage zwischen den übrigen weifsen und gelblichen Kolonien als kleine schwarze Kugeln und ein mit Nährgelatine gefülltes Reagenzgläschen, in welchem eine kleine Menge Planktonwasser oder Darminhalt von Amphioxus gemischt ist, sieht nach 5—6 Tagen aus, als habe man in der klaren Gelatine weifse und schwarze Glasperlen verteilt.

Von den übrigen Arten scheiden zwei Gelatine verflüssigende Bazillen reichlich Kohlensäure aus und scheinen damit für die Ernährung der in den oberen Meeresschichten lebenden Pflanzen von physiologischer Bedeutung zu sein.

Eine systematische Untersuchung der Bakterien des Tiefseewassers und des Planktons der verschiedenen Meere würde gewifs auch praktische Schlufsfolgerungen zulassen für die gesetzmäfsige Bewegung der höheren Tiere und für die Wege der Fische im Meer. Gelegentlich der letzten Eruption des Vesuvs im Jahre 1906 wurde durch die zoologische Station in Neapel festgestellt, dafs zunächst alles tierische Leben im Golf von Neapel durch die Lavaströme und durch die Aschen-Niederschläge zerstört wurde. Der Reihe nach traten später zuerst die niederen, dann die höheren Tierarten wieder auf in der Reihenfolge, wie sie aufeinander angewiesen sind und voneinander leben. Es dürfte kein Zweifel sein, dafs zuerst die Bakterien sich wieder eingefunden haben, an deren Vorhandensein die Existenz aller höheren Lebewesen gebunden ist.

Das erwähnte, einen schwarzen Farbstoff produzierende Stäbchen zeigt übrigens ähnlich wie die drei anderen in Reinkultur gezüchteten Stäbchen, keine bakteriologisch besonders merkwürdigen Eigenschaften. Es sind Bazillen von 2—4 Mikra Länge und 1—2 Mikra Breite, unbeweglich, leicht färbbar, Gram negativ, keine Sporen bildend; auf verschiedenen Nährböden, beson-

ders gut auf Seewasser-Gelatine wachsend, Gelatine nicht verflüssigend.

Die Kolonien bilden in den ersten 8—14 Tagen geschlossene schwarze Kugeln bis zu Stecknadelkopfgröfse, dann strahlen schwarze haarförmige Ausläufer peripher und radiär aus. Der Spaltpilz wächst am besten fakultativ anaerob, das Oberflächenwachstum auf Gelatine ist nur sehr schwach, wenig charakteristisch. Es bildet sich auch nur wenig Farbstoff, welcher den kaum sichtbaren Kolonien einen schmutzig grauen Farbenton gibt.

Dieser Spaltpilz wurde bei jeder Aussaat von Seewasser, Plankton und Darminhalt niederer Seetiere angetroffen und stellte 1—3% der sämtlichen auf Seewasser-Gelatine gewachsenen Kolonien dar.

Von den drei übrigen isolierten Bakterienarten sind zwei lebhaft bewegliche, Kohlensäure produzierende und Gelatine verflüssigende Stäbchen, welche sich nur durch ihre Gröfse voneinander unterscheiden.

Der kleinere dieser beiden Bazillen hat etwa die Gröfse des schwarzen Stäbchens, während die gröfsere Art eine Länge von 4—6 Mikra und eine Breite von 2—3 Mikra hat.

Beide Arten sind Gram negativ, bilden keine Sporen, finden sich oft zu zwei und zwei zusammenhängend. Diese Spaltpilze wachsen besser unter Ausschlufs von freiem Sauerstoff; ein Oberflächenwachstum auf Platten findet nicht statt, wohl aber ein Wachstum in den tieferen Schichten bei Reagenzglaskulturen.

Endlich wurde als vierter ein aerober, unbeweglicher, die Gelatine nicht verflüssigender Bazillus isoliert, derselbe ist ebenfalls Gram negativ, färbt sich leicht mit allen gebräuchlichen Farbstoffen, bildet keine Sporen und zeigt übrigens keinerlei besonders charakteristische Merkmale.

Im Seewasser wie im Darminhalt der niederen Tiere sind die drei letztgenannten Bazillenarten etwa zu gleichen Teilen verteilt. Im Darminhalt aber in viel gröfserer Menge als im Seewasser.

Die Arbeiten von Benecke[1]), Reinke[2]), Pringsheim[3]) lassen keinen Zweifel darüber, dafs hier auf dem Gebiete der bakteriologischen und biologischen Forschung noch unendlich viel geleistet werden kann. Die Untersuchungen von Pütter[4]) über den Stoffwechsel des Blutegels führen wiederum einen guten Schritt weiter auf dem Wege der Erkenntnis des Stoffwechsels speziell des Stickstoffumsatzes der niederen Tiere.

Da nun aber ein den Koli-Bakterien nahestehender Spaltpilz im Darm niederer Seetiere nicht angetroffen wurde, so mufste für die Ernährungsversuche an steril gezüchteten Hühnchen wiederum auf Bakterien zurückgegriffen werden, welche den höheren warmblütigen Tieren nahestehen.

In Kuhmilch, welche nicht unter besonderen Vorsichtsmafsregeln gewonnen wird und ungekocht bei gewöhnlicher Zimmertemperatur einige Tage offen steht, finden sich stets eine Anzahl verschiedener Bakterien, welche unter Zersetzung des Milchzuckers Säure bilden und die Milch zur Gerinnung bringen. Unter diesen Bakterien ist mit grofser Regelmäfsigkeit ein dem Bacillus coli communis sehr nahestehender, vielleicht sogar mit ihm identischer Spaltpilz anzutreffen. Dieser Milchbazillus wurde für die nächsten Fütterungsversuche bei steril gezüchteten Hühnchen benutzt.

Man darf wohl voraussetzen, dafs dieser in der Kuhmilch vorkommende Koli-Bazillus dem Rinderdarm bzw. dem Rinderkot entstammt und in Folge seines raschen Wachstums und seiner Bedürfnislosigkeit in irgend einer Weise den Weg in die gemolkene Milch findet, woselbst er neben anderen »Milchsäurebazillen« sich weiter entwickeln kann. Die Identitätsbestimmung des Kuhmilch-Koli-Bazillus und des Koli-Bazillus des Rinderdarms mittels des Agglutinationsverfahrens bestätigt diese Voraussetzung. Jedenfalls ist dieser Kuhmilch-Koli-Bazillus einer der am weitesten

---

1) Benecke, Berichte der deutsch. botanischen Gesellschaft. XXV. Heft 1.

2) Reinke, desgl, XXI, S. 371.

3) Pringsheim, Bakt. Zentralbl., 1906, Bd. 16, S. 795.

4) Pütter, Zeitschr. f. allgem. Physiologie 1906 u. 1907.

verbreiteten Spaltpilze dieser Art und kann vielleicht als der »spontan« im Freien vorkommende Koli-Bazillus betrachtet werden. Er hat auch Gelegenheit in den Darm der verschiedensten Tiere und des Menschen mit der Nahrung aufgenommen zu werden und sich dort je nach Umständen weiter zu vermehren.

Als biologische Kriterien wurden angefordert: kurzes bewegliches Stäbchen, Gram negativ, keine Sporenbildung, Entwicklung von Gas und Säure auf entsprechenden Nährböden.

Mit solchen Bazillen wurde die Nahrung der steril gezüchteten Hühnchen infiziert.

Der Versuch wurde folgendermafsen ausgeführt:

Der bereits früher[1]) beschriebene Apparat für sterile Züchtung war dahin geändert, dafs in der bakteriensicher abgeschlossenen Glaskammer statt des einen nunmehr zwei voneinander unabhängige Käfige für steril ausgeschlüpfte Hühnchen aufgestellt wurden. Jeder der beiden Käfige, (welche wie gewöhnliche Thermostaten gestaltet, mit seitlichen Fenstern und mit vorderer Glaswand versehen sind) besitzt eine Warmwasserheizung für sich, deren Temperatur von aufsen reguliert werden kann. Die auszubrütenden Eier verlangen 38°—40°, die eben ausgeschlüpften Hühnchen 35°. Später mufs von 8 zu 8 Tagen die Temperatur um 5° erniedrigt werden bis die Normaltemperatur von 20° für 4 Wochen alte Hühnchen erreicht ist. Dann kann die Heizung ausgeschaltet werden und das Hühnchen pafst sich der jeweils herrschenden höheren oder niederen Aufsentemperatur an.

Am 4. April wurden in jeden der beiden sterilen Zuchtkäfige je vier bis zum 20. Tage angebrütete äufserlich desinfizierte Eier eingelegt, aus denen am 5. April im ganzen 7 Hühnchen ausschlüpften. In dem einen Brutkäfig waren drei, in dem andern alle vier Eier ausgeschlüpft.

Mit geeigneter steriler Nahrung, Wasser etc. waren die Käfige in der bereits früher beschriebenen Weise ausreichend versehen.

1) Archiv für Hygiene, 1899, Bd. XXXIV, S. 227 und Abbildung.

Nachdem die Hühnchen 16 Tage alt waren und mit steriler Nahrung ernährt, entsprechend den früheren Erfahrungen kein Wachstum zeigten, sondern, wie an den ersten Lebenstagen, ohne ausgebildete Federn, nur mit dem Flaum bedeckt, im Käfig umherliefen und fortwährend frafsen, wurde am 21. April mit dem ersten Bakterien-Fütterungsversuch begonnen.

Vorher aber wurde eines der drei im Zuchtkäfig A und eines der vier im Zuchtkäfig B befindlichen Hühnchen in Gelatine eingeschmolzen, um die Sterilität zu kontrollieren. Ebenso wurden Proben vom Futter, vom Wasser und Dejektion in Gelatine eingeschmolzen zur Kontrolle der Sterilität.

Ich kann gleich hier vorausschicken, dafs die fortlaufende Beobachtung der eingeschmolzenen Hühnchen und der übrigen Materialien die Sterilität aller Objekte ergeben hat.

Als letzte am 21. April in dem sterilen Glasverschlufs vorgenommene Handlung wurde dann in den Zuchtkäfig B, in welchem sich noch drei sterile Hühnchen befanden, 10 ccm einer dreitägigen Bouillonkultur des aus Milch gezüchteten Kolibazillus über das Futter ausgegossen. Die beiden im Zuchtkäfig A verbliebenen Hühnchen wurden als Kontrolltiere in der bisherigen Weise mit sterilem Futter weitergefüttert. Darauf Glasverschlag verlassen und abgeschlossen; Laboratorium verlassen und abgeschlossen und der Versuch seinem Schicksal überlassen.

Inzwischen wurden in unserem künstlichen Eierbrutapparat stets zwischen 50 und 60 Eier angebrütet, um im Fall eines unvorhergesehenen Ereignisses oder im Fall des Mifslingens der sterilen Züchtung sofort eine neue Serie vorbereiteter bebrüteter Eier zur Verfügung zu haben.

Am 28. April — dem 23. Lebenstage der Versuchstiere — fand die erste Revision des Versuches statt: es zeigte sich, dafs die beiden steril gefütterten Hühnchen nach wie vor klein geblieben waren. Sie machten stets trotz fortwährenden Fressens einen elenden Eindruck und waren viel weniger lebhaft beweglich. Eines der Hühnchen lag jetzt am Boden hingestreckt und war verendet.

Dagegen hatten die mit dem Kolibazillus gefütterten Tiere ersichtlich an Gröfse zugenommen, zeigten beginnendes Wachstum echter Federn und standen kräftig auf den Beinen.

Nun wurde das steril gefütterte Hühnchen aus dem Zuchtkäfig A, sowie Materialien aus dem sterilen Käfig: Futter, Wasser, Sand und Dejektion zur Kontrolle in Nährgelatine eingeschmolzen. Käfig B mit Futter frisch versehen und Glasverschlag und Laboratorium wieder abgeschlossen.

Nach einigen Tagen ergab sich nun aus dem Kulturresultat der geimpften Gelatineröhrchen, dafs der Versuch durch Eindringen eines fremden Spaltpilzes unerwarteterweise verunreinigt war. In den Kontrollgefäfsen traten in der Gelatine zahlreiche, ziemlich gleichmäfsig verteilte, kleine runde Kolonien auf, welche sich bei näherer Untersuchung als Kokken auswiesen und dem gewöhnlichen, in der Luft so weit verbreiteten Mikrokokkus albus entsprachen.

Da die Kolonien dieses Luftkokkus in derselben Art auch in den aus dem zweiten Käfig entnommenen Kontrollproben neben dem Kolibazillus auftraten, so mufs daraus gefolgert werden, dafs bei dem Öffnen des Glasverschlages und beim Betreten desselben am 21. April mit dem Luftstrom, welchen die Tür beim Öffnen in Bewegung gesetzt hat, eine Anzahl dieser Luftkokken aufgewirbelt wurden und in die sterilen Käfige gelangten. Die damals benutzte Gelatine war, wie Kontrollen ergaben, steril gewesen. Der Versuch war also nicht rein und mufste wiederholt werden.

Immerhin lassen sich doch einige Schlufsfolgerungen aus dem Ergebnis ziehen: Trotz des Vorhandenseins des Luftkokkus auf der Nahrung und im Wasser, hatten die steril ohne den Kolibazillus gefütterten Hühnchen nicht zugenommen, während die anderen Hühnchen sich gut entwickelt hatten. Daraus geht hervor, dafs nicht jeder beliebige Spaltpilz imstande ist, die Ernährung günstig zu beeinflussen, sondern dafs es bestimmte dazu geeignete Spaltpilze, z. B. die Koliarten, sein müssen.

Ob eine gemeinsame Wirkung der Luftkokken in Verbindung mit den Kolibazillen die gute Einwirkung auf die Er-

nährung gehabt hatten oder ob der Kolibazillus allein verantwortlich war, das konnte allerdings aus diesem mifsglückten Versuch nicht erschlossen werden, und daher mufsten wir den Versuch wiederholen.

Vorher jedoch wurde nochmals eine extra gründliche Abdichtung des Laboratoriums gegen die äufsere Luft vorgenommen. Durch fachmännisch geschulte Tapezier wurden alle, auch die kleinsten Fugen des ganzen Laboratoriums mit Watte ausgestopft und mit Papier verklebt, namentlich die Fenster und die Türen wurden auf das sorgfältigste gedichtet. Die Ventilations-Oeffnungen wurden mit doppelten Wattefiltern frisch versehen und aufserdem aufsen vor den Türen des Laboratoriums Doppeltüren angebracht. Von innen war vor der Eingangstür, um jede Luftbewegung unmöglich zu machen, aufserdem noch ein schwerer dichter Vorhang ausgespannt.

Dann wurden durch mechanisches Reinigen und Abwaschen die inneren Zuchtkäfige, der Glasverschlag und schliefslich das ganze Laboratorium sorgfältig gereinigt und nun zuerst durch kräftiges Ausschwefeln und nach zwei weiteren Tagen durch Formaldehyddesinfektion alle Räume gründlichst desinfiziert.

Aufgestellte Gelatine- und Agarplatten blieben steril, und die vorgenommene Luftuntersuchung ergab Keimfreiheit. Es ist noch zu bemerken, dafs es während der folgenden Wochen viel regnete und auch die Aufsenluft der Strafse relativ keimarm war. Das Laboratorium wurde trotzdem zum Zweck der Kontrollen nur in den ganz frühen Morgenstunden betreten, in denen draufsen der Staub noch niedergeschlagen am Boden ruht. Wir bekleideten uns dann — wie früher beschrieben — mit den sterilisierten, dicht schliefsenden Anzügen, zogen die Stiefel aus und desinfizierte Gummischuhe über die Füfse und befleifsigten uns stets ganz langsamer Bewegungen. Aufserdem war dafür Sorge getragen, dafs gar kein Wasser oder sonstige Flüssigkeit im Laboratorium vorhanden war. Selbst die Wasserleitung war abgestellt und die Ausflufsöffnungen der Wasserhähne mit dicken Wattebäuschen verschlossen. Jede dieser Infektionsquellen kann

den ganzen Versuch zerstören, und durch üble Erfahrungen waren wir sehr vorsichtig geworden.

So konnte denn am 12. Mai mit einer neuen Versuchsreihe begonnen werden.

Nach entsprechender Desinfektion der bis zum 19. Tage vorgebrüteten Eier wurden am 12. Mai in jeden der beiden sterilen Käfige, welche wiederum mit allem notwendigen Futter, Wasser und sonstigem kontrollierten sterilen Material versehen waren, je acht Eier eingelegt. Aus diesen sechzehn Eiern waren nach drei Tagen in dem Käfig A fünf, in dem Käfig B sechs Hühnchen ausgeschlüpft.

Am 26. Mai wurde auf Sterilität kontrolliert, aus jedem der beiden Käfige ein Hühnchen in Gelatine eingeschmolzen, ebenso Dejektion, Futter etc. Es zeigte sich demnächst, dafs die Sterilität erhalten war. Nun wurden den vier sterilen Hühnchen im Käfig A wiederum Kolibazillen aus Kuhmilch gezüchtet, über das Futter verteilt (10 ccm einer dreitägigen Bouillonkultur), und Glasverschlag und Laboratorium wieder verlassen, abgeschlossen. Nach 14 Tagen — am 9. Juni — kontrollierten wir den Erfolg der Bakterienfütterung und konnten feststellen, dafs die fünf steril gefütterten Hühnchen, wie bei den früheren Versuchen gar nicht gewachsen waren und — trotzdem sie fortwährend frassen — kaum noch auf den Beinen stehen konnten. Die mit den aus Milch gezüchteten Kolibakterien versorgten Hühnchen waren gröfser geworden, bewegten sich lebhaft und hatten glatten Flaum mit beginnender Federentwicklung. Den im Freien aufgewachsenen, zwei Wochen alten Hühnchen gegenüber war aber auch diese Serie im Wachstum zurückgeblieben.

Da nun bei der vorgeschrittenen Jahreszeit die Brutresultate der künstlich bebrüteten Eier sich wesentlich verschlechterten und nicht mehr mit Sicherheit darauf gerechnet werden konnte, nochmals eine Serie steril gezüchteter Hühnchen durchzubringen, so entschlofs ich mich am 9. Juni, die vier im Zuchtkäfig A mit Milchkolibakterien aufgezogenen Hühnchen frei zu geben und im Hof laufen zu lassen. Die Tiere wogen durchschnittlich 50 g; das stärkste 52 g, das schwächste 46 g. Der A-Käfig

wurde dann nach Entfernung der Hühnchen mit Watte und sterilen Tüchern verhängt und dadurch soweit abgeschlossen, dafs eine unbeabsichtigte Übertragung der Milchkolibakterien auf den Käfig B ausgeschlossen war.

Den fünf sterilen Hühnchen im Zuchtkäfig B, welche, ihrem Verhalten nach und entsprechend unseren früheren Erfahrungen, unmittelbar vor dem Absterben sich befanden, übertrug ich nun einen Stamm Kolibakterien, welche aus normalem Hühnerkot gezüchtet waren auf das Futter und in das Wasser. Von einer drei Tage alten Agarkultur dieser Hühnerkolibakterien wurde eine Bouillonaufschwemmung gemacht und diese in dem Käfig B über den Boden, Futter und das Wasser ausgegossen.

Es war nun interessant und beweiskräftig für die nützliche Bedeutung der Darmbakterien, zu sehen, wie die bis dahin steril gefütterten Hühnchen von Tag zu Tag an Kraft zunahmen und gleichsam das versäumte Wachstum nachzuholen versuchten. Das ganze Gebahren der Hühnchen, welche bis dahin von einer krankhaften Unruhe getrieben im Käfig hin und her gelaufen waren und unausgesetzt Futter verschlungen hatten, wurde sichtlich zweckmäfsiger und normaler: die Hühnchen ruhten sich öfters aus, auch untertags, nachdem sie gefressen hatten, glätteten mit den Schnäbeln den Flaum und die heranwachsenden Federn, kurz: sie verhielten sich, wie man das an den im Freien aufwachsenden Tieren zu sehen gewohnt ist.

Am 29. Juni, nachdem die Hühnchen 20 Tage lang unter der Wirkung der Hühnerkolibakterien genährt waren und der im Zuchtkäfig vorhandene Futter- und Wasservorrat zu Ende ging, wurde der Versuch abgebrochen.

Diese fünf Hühnchen waren also vom 12. Mai bis zum 9. Juni — vier Wochen lang — steril ohne Bakterien gefüttert und waren am Ende dieser Zeit äufserst schwach, sichtlich verkümmert. Das Gewicht der einzelnen Tiere wurde damals nicht durch Wägung bestimmt, da die Hühnchen unmittelbar zu dem anschliefsenden Fütterungsversuch mit Hühnerkolibakterien verwendet wurden und wir das Risiko nicht übernehmen wollten, den bis dahin steril erhaltenen Versuch durch die komplizierte

Vornahme der Wägung zu gefährden. Nach früheren Erfahrungen dürfen wir aber annehmen, dafs das Gewicht der vier Wochen lang ohne Bakterien gezüchteten Hühnchen am 9. Juni durchschittlich 35 g betragen habe.

Nach Beendigung des Versuches vom 9. bis 29. Juni, nachdem die Hühnchen 20 Tage lang unter dem Einflufs von Hühnerkolibakterien gelebt und sich sichtlich erholt hatten, wurde jedes Hühnchen gewogen und dabei folgende Zahlen gefunden: Das Hühnchen a) wog 73 g, b) 68 g, c) 76 g, d) 72 g.

Die Tiere hatten also innerhalb 20 Tagen um etwa das Doppelte des Eigengewichts zugenommen. Das Körperwachstum, die Ausbildung der Federn etc., entsprach dieser Gewichtszunahme.

Die Hühnchen dieser Versuche, welche später freigelassen und nicht weiter künstlich beeinflufst wurden, haben sich übrigens sämtlich normal weiter entwickelt und leben zum Teil heute noch.

Aus diesen Versuchen geht wiederum hervor, dafs Hühner ohne Darmbakterien nicht leben können, und man darf wohl schliefsen, dafs dieses Gesetz auch für die anderen warmblütigen Wirbeltiere und für den Menschen gilt. Es hat sich ferner gezeigt, dafs nicht jede Bakterienart imstande ist, den nützlichen Zweck der Darmbakterien zu erfüllen oder die Darmbakterien zu ersetzen, sondern dafs für die Hühner die für diese Spezies angepafste Rasse der aus Hühnerdarm stammenden Kolibakterien am geeignetsten ist, um die normale Funktion des Darms zu bewirken. Es ist mir wahrscheinlich, dafs auch für den Menschen die für seine Eigenart angepafste Rasse der Kolibakterien die zweckmäfsigste sei. Jeder gesunde Mensch beherbergt die für seine Ernährung und für seine Gesundheit am besten geeigneten Darmbakterien.

Wenn ich also das Ergebnis meiner Untersuchungen kurz zusammenfasse, so komme ich zu dem Schlufs:

1. Die Darmbakterien sind notwendig für die Ernährung der Wirbeltiere und für den Menschen;

2. der Nutzen der normalen Darmbakterien besteht:
   a) in der Vorbereitung der Jngesta für die Resorption der Nahrungsstoffe,
   b) in der Reizung der Darmwand zur Auslösung der Peristaltik,
   c) in der Überwucherung und Vernichtung pathogener, in den Darm hineingelangter Bakterien,
   d) in der Festigung des Körpers gegen pathogene Bakterien und gegen Bakteriengifte.

Über das bakteriologische Verhalten des Fischfleisches nach der Zubereitung.

Von

Dr. Hugo Bruns,
Grenztierarzt aus Deutsch-Avricourt.

(Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Strafsburg. Direktor: Professor Dr. Forster.)

Herr Professor Forster hatte die Güte, mir den Auftrag zu erteilen, einen Beitrag über die Frage der Haltbarkeit des Fleisches zubereiteter Fische vom Standpunkte des Hygienikers aus zu liefern.

Es ist eine bekannte Erfahrungstatsache, dafs postmortale Zersetzungsprozesse das rohe Fleisch der Fische viel schneller untauglich als menschliches Nahrungsmittel machen, als das Fleisch der Säugetiere, und dafs es weiterhin ratsam ist, das Fischfleisch nicht allzulange nach der Zubereitung zu geniefsen. Die Literatur verzeichnet zur Genüge Fälle, bei welchen infolge Genusses von Fischfleisch, das noch einige Tage nach der Zubereitung aufbewahrt worden war, die schwersten Erkrankungen und Vergiftungsfälle eingetreten sind. Wenn auch aus den verschiedenartigsten Ursachen Fischvergiftungen entstehen können und entstanden sind, so lassen sich doch die meisten der bekannt gewordenen Erkrankungsfälle auf den Genufs solchen Fischfleisches zurückführen, das durch bakterielle Einwirkung verdorben war.

Da nun der Fisch für den Menschen ein nicht zu unterschätzendes Nahrungsmittel bildet, ist die Frage, ob unter allen Umständen die Genufsfähigkeit seines Fleisches nach der Zubereitung sehr schnell durch Bakterien herabgesetzt wird, eine äufserst wichtige.

Müller hat gleichfalls im Institute Professor Forsters nachgewiesen, dafs Fischfleisch sowohl im rohen, als auch namentlich im gekochten Zustande nach einigen Tagen einen widerlichen, ranzigen, stechenden Geruch und einen eigentümlich kratzenden Geschmack zeigt, und trotzdem das Material noch steril ist, dafs demnach nicht eine Einwirkung bakterieller Natur stattfinde, sondern auf autolytischem Wege entstehende chemische Körper die genannten Geruchs- und Geschmacksveränderungen bedingen.

Ulrich in Zürich hat aus seinen Untersuchungen die Schlufsfolgerungen gezogen, dafs schon im rohen Fische die Zahl der Bakterien eine beträchtliche, und nach der Zubereitung das Fleisch desselben nicht steril ist, und dafs dasselbe für Mikroorganismen einen derart günstigen Nährboden darstellt, dafs es nicht unbedenklich erscheine, Fische in der warmen Jahreszeit später als 24 Stunden nach der Zubereitung zu geniefsen.

In den Befunden dieser beiden Autoren liegt ein auffallender Widerspruch, und so haben die Untersuchungen Ulrichs den Anlafs zu vorliegender Arbeit gegeben, ist es doch von besonderem Interesse, auch vom nationalökonomischen Standpunkt aus betrachtet, zu wissen, ob und gegebenenfalls wie lange nach der Zubereitung eines Fisches bei gewöhnlicher Aufbewahrungsart das Fleisch desselben in der Tiefe steril bleibt. Dafs die oberflächlichen Schichten sehr bald Bakterienkolonien beherbergen, ist ja selbstverständlich. Auf Veranlassung des Herrn Professor Forster stellte ich daher Untersuchungen über obengenannte Fragen an, deren Resultate ich im folgenden niedergelegt habe.

Zu meinen Versuchen verwendete ich sowohl Süfswasser- als Seefische. Die ersteren stammten zum gröfsten Teile aus den lothringischen Teichen von Rixingen und Gondrexange, zum andern Teile kaufte ich dieselben sowie die Meerfische in verschiedenen Fischhandlungen in Strafsburg und Saarburg an.

Benutzt wurden nur solche Tiere, an denen Krankheitserscheinungen irgendwelcher Art nicht wahrnehmbar waren, resp. bei den tot gekauften Seefischen, bei denen sich Fäulniserscheinungen nicht nachweisen liefsen.

In diesen Versuchen habe ich zunächst geprüft, wie lange Zeit es möglich ist, aus der Tiefe des Fleisches zubereiteter Fische sterile Proben zu entnehmen.

Der Gang der Untersuchung war für alle Tiere der gleiche.

Die lebend gekauften Süfswasserfische wurden nach holländischer Art mittels Durchschneidens des Rückenmarkes hinter dem Gehirn getötet, darauf geschuppt und gewaschen. Darnach wurden sofort aus dem rohen Fleisch Teile entnommen und Kulturen angelegt, um dieselben auf ihren Gehalt an Bakterien zu untersuchen. Ich bediente mich hierbei, wie auch späterhin bei der Entnahme von Proben aus dem Fleisch der zubereiteten Tiere, der im Strafsburger Institut geübten Methode, indem ich einen genügend grofsen Teil der Fischoberfläche mit einem rotglühenden Messer abglühte, wodurch nach den Feststellungen Professor Forsters nur die Keime bis zu 2 mm Tiefe abgetötet werden. Darnach legte ich mit einem ausgekochten Messer einen Schnitt in die Tiefe, von der Tiefe dieses Schnittes möglichst senkrecht zu demselben mit einem zweiten sterilen Messer einen nochmaligen Schnitt und schabte aus der Tiefe dieses Schnittes, ohne die Wandungen des ersteren zu berühren, mit einem sterilen scharfen Löffel ein ungefähr 1 g schweres Stückchen Fleisch ab, welches ich in ein Reagenzröhrchen mit flüssiger Gelatine einbrachte. Durch kräftiges Drehen und Schütteln wurden die geschabten Fleischstückchen gleichmäfsig in der Flüssigkeit verteilt, wonach die nach den Vorschriften v. Esmarchs hergestellten Röhrchen in kaltem Wasser so lange gerollt wurden, bis die Gelatine gleichmäfsig an den Innenwandungen verteilt und erkaltet war. Es wurde also ein Umgiefsen in Petri-Doppelschalen, wie es Ulrich getan hat, vermieden.

Zu dem gleichen Zweck entnahm ich eine Probe aus der Leibeshöhle derart, dafs ich die Oberfläche abglühte, darauf mit ausgekochtem Messer die Leibeshöhle genügend weit eröffnete, um von der Wandung derselben mit einem sterilen scharfen Löffel ohne Verletzung von Darmteilen Stückchen abzuschaben, welche ich wiederum in ein Gelatinerollröhrchen einbrachte.

Die Kulturen wurden jederzeit doppelt angelegt.

Hierauf wurden die Fische ausgenommen und so zubereitet, als wenn dieselben gegessen werden sollten, und zwar zu einem Teil wurden dieselben gebacken, zum andern Teil gekocht, und zwar teils nur in Salzwasser, teils in Essigsalzwasser.

Hier möchte ich einflechten, da einerseits die Zubereitung der Fische im Institute grofse Schwierigkeiten verursacht hätte, anderseits aber mir vor allem daran lag, ein möglichst naturgetreues Bild zu liefern, dafs die sämtlichen Zubereitungen und Untersuchungen zunächst in meinem Haushalte vorgenommen, die Kulturen sodann jeweils einige Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt, aber späterhin zur weiteren Beobachtung in das Institut verbracht wurden.

Die Nährböden stammten ohne Ausnahme aus dem Institute.

Die zubereiteten Fische wurden auf Schüsseln gelegt und so aufbewahrt. Um mich in jeder Beziehung möglichst dem täglichen Leben anzupassen, wurde auch zu einem Teil von denselben gegessen und die Reste weiter bewahrt und behandelt. Nach ungefähr einer Stunde, also nachdem die Fische kalt geworden waren, wurden die ersten Proben sowohl von der Oberfläche, als auch von der Innenfläche und, wie vorseitig beschrieben, aus der Tiefe des Fleisches entnommen. Das gleiche geschah nach ungefähr 10—12 Stunden. Dann wurden jeden Tag, und zwar nur noch aus der Tiefe des Fleisches, Kulturen angelegt, da Oberfläche und Innenfläche der Fische sehr bald mit Bakterienkolonien verunreinigt waren, bis sich sterile Proben nicht mehr entnehmen liefsen oder das Material erschöpft war.

Die Fischreste wurden in einem luftigen, als Speisekammer benutzten Zimmer aufbewahrt.

Von lebend gekauften Süfswasserfischen wurden folgende Arten verwendet:

1. Schleie, tinca vulgaris,
2. Karpfen, cyprinus carpio,
3. Plötze, leuciscus rutilus,
4. Kaulbarsch, acerina cernua,
5. Flufsbarsch, perca fluviatilis,
6. Hecht, esox lucius,
7. Barbe, barbus vulgaris,
8. Bachforelle, salmo fario,
9. Nase, chondrostoma nasus,
10. Aal, anguilla fluviatilis.

Gleicherweise wurden auch Seefische untersucht. Die Tiere sollen nach den übereinstimmenden Aussagen der einzelnen Fischhändler seit dem Fange und der Tötung auf Eis, und zwar höchstens 2—3 Tage, gelegen haben.

Die Entnahme der Proben aus dem rohen Fleisch geschah kurz vor der Bereitung, nachdem die Fische, von den gröfseren Arten waren es natürlich nur Stücke von solchen, gehörig gewaschen worden waren. Die nachfolgend unter Nr. 19—20 genannten Flachfische wurden beim Backen ohne Haut und beim Kochen mit der Haut zubereitet.

Es wurden folgende Arten von Meerfischen untersucht:

11. Häring, clupea harengus,
12. Schellfisch, gadus aeglefinus,
13. Seelachs, salmo salar,
14. Merlan, gadus merlangus,
15. Kabeljau, gadus morrhua,
16. Rochen, raja rubus,
17. Seeaal, conger vulgaris,
18. Scholle, pleuronectes platessa,
19. Seezunge, solea vulgaris,
20. Flunder, pleuronectes flesus.

Um ein möglichst vollständiges Bild geben zu können, wurden auch konservierte, und zwar geräucherte, gesalzene und

gedörrte Fische, sofern dieselben auf die eine oder die andere der genannten Arten zubereitet zu werden pflegen, in die Untersuchung eingeschlossen.

Von geräucherten Fischen wurden folgende Arten untersucht:

21. Häring,
22. Bückling,
23. Aal,
24. Flunder.

Die Proben aus dem Fleisch vor der Zubereitung wurden kurz vor derselben, nachdem die Haut abgezogen worden war, entnommen.

Von gesalzenen Fischen wurden untersucht:

25. Häring,
26. Laberdan—Kabeljau im gesalzenen Zustand.

Die Proben aus dem rohen Fleisch wurden kurz vor der Bereitung nach gehöriger Wässerung entnommen.

Zum Schlusse wurde der

27. Stockfisch — der Kabeljau im getrockneten Zustande — untersucht.

Die Proben aus dem rohen Fleisch wurden kurz vor der Bereitung, nachdem der Fisch gehörig verwässert worden war, entnommen.

Von den gesalzenen und getrockneten Arten wurden weiterhin aus dem rohen Fleisch vor der Wässerung Proben entnommen, und zwar bei den gesalzenen Fischen auf die beschriebene Weise, bei dem Stockfisch jedoch folgender Art: Ein Teil der Oberfläche wurde abgeglüht, und dann ein glühendes Messer durch den Fisch hindurchgeschlagen. Mit sterilem scharfem Löffel wurde die angebrannte Schnittfläche abgekratzt und von den darunter liegenden Partien mit einem zweiten sterilen scharfen Löffel Stückchen abgeschabt und in Gelatinerollröhrchen weiter behandelt.

Die Versuche lassen sich demnach in folgender Weise einteilen:

1. Untersuchung lebend gekaufter Süfswasserfische,
2. Untersuchung getöteter, auf Eis lagernder Seefische,
3. Untersuchung konservierter Fische, und zwar:
   a) geräucherter,
   b) gesalzener,
   c) getrockneter Fische.

Die Versuche sind in nachfolgenden Tabellen (S. 216—223) veranschaulicht. Für sämtliche Tabellen bedeutet

0 kein Wachstum,
+ weniger als 10 Kolonien,
++ 10—30 Kolonien und
+++ starkes Wachstum in den Gelatineröhrchen.

Die auf den Nährsubstraten zur Entwickelung gelangten Kolonien stimmten mit den von Ulrich beschriebenen überein. Es zeigten sich in geringerer Menge gelatineverflüssigende und in gröfserer Menge gelatinenichtverflüssigende Kolonien.

Die hauptsächlichsten der ersten Gruppe sind: 1. runde, graugrünlich gefärbte, fluoreszierende Kolonien, welche Stäbchen enthalten, die eigenbeweglich sind: bac. fluorescens liquefaciens, und 2. grau gefärbte Kolonien, die gleichfalls eigenbewegliche Stäbchen enthalten: bac. Proteus vulgaris.

Die nichtverflüssigenden Kolonien zeigten sich blafs und durchscheinend und enthielten kurze, eigenbewegliche Stäbchen: bac. coli.

Aufserdem fanden sich hie und da von beiden Gruppen noch einige andere Arten, auf deren nähere Bestimmung jedoch, da nicht im Rahmen der Arbeit liegend, nicht eingegangen wurde.

Die Aufzeichnung des Befundes auf den Kulturen geschah jedesmal 48 Stunden nach dem Anlegen derselben, wonach die als steril befundenen noch 4 Wochen lang beobachtet wurden, während diejenigen, auf denen Bakterienwachstum zu verzeichnen gewesen war, nach 8 Tagen beiseite gelegt wurden. Es wurde selbstverständlich bei den jeweils doppelt angelegten Kulturen stets der ungünstigere Befund verzeichnet, desgleichen, was einige Male vorkam, die Aufzeichnung richtig gestellt, wenn nach 48 Stunden eine Änderung eingetreten war.

Tabelle I.

Art der Zubereitung: gebacken.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

Nr	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung		Entnahme von Proben nach der Zubereitung										
				nach 1 Stunde von			nach 10–12 Stunden von			am 2. Tag	am 3. Tag	am 4. Tag	am 5. Tag	am 6. Tag
		aus Fleisch	aus Leibeshöhle	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch	aus Fleisch	aus Fleisch	aus Fleisch	aus Fleisch	aus Fleisch
1	180	0	0	0	0	0	+	++	0	0	0	0	+	
2	250	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	++
3	160	0	0	0	0	0	++	++	0	0	0	0	+	
4	100	0	+	1 Kolon.	0	0	++	++	0	0	0	+	++	
5	140	0	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	++	
6	250	0	0	0	0	0	++	++	0	0	0	0	0	+
7	250	0	0	0	0	0	+	++	0	0	0	0	0	+
8	150	0	0	0	0	0	++	++	0	0	0	0	+	
9	300	0	0	+	0	0	+++	++	0	0	0	0	0	0
10	250	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0

Tabelle II.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

Nr.	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung		Entnahmen von Proben nach der Zubereitung										
				nach 1 Stunde von			nach 10—12 Stunden von			am 2. Tag aus Fleisch	am 3. Tag aus Fleisch	am 4. Tag aus Fleisch	am 5. Tag aus Fleisch	am 6. Tag aus Fleisch
		aus Fleisch	aus Leibeshöhle	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch					
1	200	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	++
2	260	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	++
3	170	0	0	+	+	0	+++	+	0	0	0	0	+	
4	80	0	+	+	+	0	++	+	0	0	0	+		
5	145	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	++	
6	240	0	0	2 Kolon.	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+
7	200	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0	+	
8	140	0	+	1 Kolon.	0	0	++	+	0	0	0	0	++	
9	280	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0
10	270	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0	0	0

Tabelle III.

Art der Zubereitung: gekocht in Essigsalzwasser.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

Nr.	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung		Entnahme von Proben nach der Zubereitung										
				nach 1 Stunde von			nach 10—12 Stunden von			am 2. Tag aus Fleisch	am 3. Tag aus Fleisch	am 4. Tag aus Fleisch	am 5. Tag aus Fleisch	am 6. Tag aus Fleisch
		aus Fleisch	aus Leibeshöhle	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch					
1	170	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	
2	240	0	0	0	0	0	+ +	+	0	0	0	0	0	+
3	165	0	0	0	0	0	+	5 Kolon.	0	0	0	0	0	
4	110	0	+	0	4 Kolon.	0	+ +	+ +	0	0	0	0	+	
5	150	0	+	0	0	0	+ +	+ +	0	0	0	0	+	
6	230	0	0	0	0	0	+ +	+	0	0	0	0	0	+
7	260	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+
8	140	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	+	
9	270	0	0	0	0	0	+ +	+ +	0	0	0	0	0	
10	260	0	0	+	0	0	+ +	+	0	0	0	0	0	0

Tabelle IV.

Art der Zubereitung: gebacken.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

Nr.	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch	Entnahme von Proben nach der Zubereitung								
			nach 1 Stunde		nach 10—12 Stunden aus		am 2. Tag aus Fleisch	am 3. Tag aus Fleisch	am 4. Tag aus Fleisch	am 5. Tag aus Fleisch	am 6. Tag aus Fleisch
			Oberfläche	Fleisch	Oberfläche	Fleisch					
11	280	0	2 Kolon.	0	++	0	0	0	0	0	++
12	300	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0
13	250	0	0	0	++	0	0	0	0	+	+++
14	280	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+
15	300	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0
16	280	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0
17	275	0	+	0	++	0	0	0	0	0	0
18	280	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+
19	270	0	0	0	++	0	0	0	0	0	+
20	275	0	0	0	++	0	0	0	0	0	++

Tabelle V.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 13—15° C.

Nr	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch	Entnahme von Proben nach der Zubereitung								
			nach 1 Stunde aus		nach 10—12 Stunden aus		am 2. Tag aus Fleisch	am 3. Tag aus Fleisch	am 4. Tag aus Fleisch	am 5. Tag aus Fleisch	am 6. Tag aus Fleisch
			Oberfläche	Fleisch	Oberfläche	Fleisch					
11	280	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+
12	300	0	+	0	+++	0	0	0	0	0	0
13	270	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0
14	300	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
15	250	0	0	0	++	0	0	0	0	0	++
16	250	0	0	0	++	0	0	0	0	0	++
17	280	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
18	260	0	3 Kolonien	0	+++	0	0	0	0	0	0
19	265	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+
20	260	0	5 Kolonien	0	++	0	0	0	0	0	+

Tabelle VI.

Art der Zubereitung: gekocht in Essigsalzwasser.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische : 12—16° C.

Nr	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch	Entnahme von Proben nach der Zubereitung								
			nach 1 Stunde		nach 10—12 Stunden aus		am 2. Tag aus Fleisch	am 3. Tag aus Fleisch	am 4. Tag aus Fleisch	am 5. Tag aus Fleisch	am 6. Tag aus Fleisch
			Oberfläche	Fleisch	Oberfläche	Fleisch					
11	270	0	2 Kolonien	0	++	0	0	0	0	0	++
12	300	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0
13	250	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+++
14	300	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0
15	275	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+
16	300	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+
17	250	0	0	0	++	0	0	0	0	0	
18	250	0	0	0	+	0	0	0	0	+	
19	230	0	0	0	+	0	0	0	0	++	
20	260	0	3 Kolonien	0	++	0	0	0	0	+	+++

Tabelle VII.

Art der Zubereitung: gebacken.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 13—15° C.

Nr.	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch	Entnahme von Proben nach der Zubereitung								
			nach 1 Stunde aus		nach 10—12 Stunden aus		am 2. Tag aus Fleisch	am 3. Tag aus Fleisch	am 4. Tag aus Fleisch	am 5. Tag aus Fleisch	am 6. Tag aus Fleisch
			Oberfläche	Fleisch	Oberfläche	Fleisch					
21	240	0	0	0	+ +	0	0	0	0	0	+
22	180	0	0	0	+ +	0	0	0	0	+	+ + +
23	200	0	0	0	+ +	0	0	0	0	0	+ +
24	200	0	0	0	+ +	0	0	0	0	0	+ +

Tabelle VIII.

Art der Zubereitung: gebacken.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

Nr	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch vor der Wässerung	nach der Wässerung	Entnahme von Proben nach der Zubereitung: nach 1 Stunde aus Oberfläche	nach 1 Stunde aus Fleisch	nach 10—12 Stunden aus Oberfläche	nach 10—12 Stunden aus Fleisch	am 6. Tag aus Fleisch	am 2. Tag aus Fleisch	am 3. Tag aus Fleisch	am 4. Tag aus Fleisch	am 5. Tag aus Fleisch
25	180	0	3 Kolon.	0	0	++	0	0	0	0	+	+++

Tabelle IX.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser.

25	200	0	+	2 Kolon.	0	++	0	0	0	0	0	++
26	250	0	0	4 Kolon.	0	++	0	0	0	0	+	++

Tabelle X.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser.

27	250	0	+	0	0	++	0	0	0	0	+	+++

Von Untersuchungen bei höherer Temperatur aufbewahrter Fische wurde Abstand genommen, da deren schnelles Verderben eine zu bekannte Tatsache ist.

Neben den kulturellen Versuchen einhergehend, wurden bei jeder Versuchsreihe von einigen Fischen Ausstrichpräparate angefertigt, nach den üblichen Methoden gefärbt und mikroskopisch untersucht. In allen Fällen, in denen die Kulturen steril geblieben waren, ist auch der mikroskopische Befund ein negativer gewesen.

Die in den vorstehenden Tabellen veranschaulichten Versuche zeigen zunächst, dafs im Gewebe lebender, gesunder Fische Bakterien nicht vorhanden sind. Nach dem Töten der Fische kann das Fleisch derselben, wenn man von der Oberfläche absieht, noch eine Zeitlang steril erhalten werden, wenn dasselbe in zweckmäfsiger Weise, sei es durch Lagern auf Eis, sei es durch Konservieren — Räuchern, Salzen, Trocknen — hergerichtet und aufbewahrt wird.

Weiterhin habe ich durch diese Untersuchungen den Beweis erbracht, dafs nach der Zubereitung das Fischfleisch steril ist, und dafs dasselbe in der Tiefe mehrere Tage steril bleibt. Die Oberfläche der Fische wird dagegen sehr bald durch Bakterien verunreinigt. Die Art der Zubereitung übt auf die Haltbarkeit des Fleisches einen besonderen Einflufs nicht aus. Es mufs allerdings zugegeben werden, dafs bei den gebackenen Fischen die Menge des zugesetzten Fettes eine Rolle spielt, da bei etwas Sparsamkeit in dieser Hinsicht die Fische zerbröckeln. Der gleiche Nachteil ergibt sich, wenn die Fische zu lange gekocht werden. Hierdurch wird den Bakterien eine viel gröfsere Angriffsfläche zur Einwanderung in die Tiefe des Fleisches geboten. Auch die Beschaffenheit des zum Backen benutzten Fettes mag sicherlich einen Einflufs auf die Haltbarkeit ausüben. Ich verwendete nur ausgelassene Butter. Es ist bekannt, dafs dieses durch Ausschmelzen von Käsestoff und Wasser befreite reine Butterfett monatelang sich hält, während frische Butter schon nach einigen Tagen ranzig wird. Eine besondere

Stellung nimmt der Aal ein, dessen an und für sich sehr fettes Fleisch durch seine schwartige Haut noch besonders vor der Durchwucherung mit Bakterien geschützt zu sein scheint. Es zeigt sich auch eine Ungleichheit zwischen kleinen und dünnen Fischen einerseits, und zwischen grofsen und dicken anderseits, insofern als letztere einige Tage länger es ermöglichen, sterile Proben zu erhalten. Des weiteren dürften auch die vorliegenden günstigen Resultate auf ein möglichst vorsichtiges Behandeln der Fische vom ersten Augenblick der Zubereitung an sowie ein reinliches Aufbewahren auf sauberen Unterlagen in luftigem Raum, von dem alle nachteiligen Einflüsse ferngehalten wurden, zurückzuführen sein. Auch jedes unnötige Verletzen der Fische durch Berühren oder Herumwerfen wurde streng vermieden, welche Umstände bei Ulrich möglicherweise zu den ungünstigeren Ergebnissen beigetragen haben können. Bestätigen doch gerade die Tatsachen, dafs je kleiner die Fische, oder je zerbröckelter dieselben waren, desto kürzere Zeit es nur möglich war, sterile Proben aus dem Fleische zu erhalten, die Erfahrung, dafs die Bakterien von der Oberfläche in die Tiefe einwandern.

Bemerkenswert ist, dafs die von Müller in seinen Untersuchungen beschriebenen Geruchs- und Geschmacksveränderungen an dem Fischfleisch auch von mir beobachtet wurden. Ich nehme an, dafs durch die Zubereitung die Fermente, welche beim rohen Fischfleisch die Autolyse bewirken, vernichtet sind. Es kann sich bei meinen Beobachtungen um Bakterienwirkung handeln, es mag aber auch die Möglichkeit vorliegen, dafs diese Veränderungen unter Einflufs von Licht und Verdunstung eingetreten sind, da dieselben von der Oberfläche ausgehen. Nimmt man nämlich aus dem Innern unter Vermeidung der Oberfläche Teile, so ist deren Geruch und Geschmack ein anderer, als es der Fall ist, wenn man solche von der Oberfläche nimmt.

Die Tatsache nun, dafs das Einwandern der Bakterien in das Fischfleisch von aufsen her geschieht, warf naturgemäfs die Frage auf, ob es nicht möglich ist, durch geeigneten Schutz der Fischoberfläche diese Bakterieneinwanderung zu verzögern.

Ich stellte daher Versuche hierüber an, indem ich die zubereiteten Fische, nachdem dieselben in verdeckten Schüsseln erkaltet waren, in sterilisiertes Filtrierpapier einwickelte und die Fische auf diese Weise 3—4 Tage aufbewahrte.

Das Filtrierpapier war im Institute sterilisiert worden.

Die Versuche wurden in derselben Reihenfolge und unter gleichen Bedingungen vorgenommen, wie die vorherigen, nur das Kochen in Essigsalzwasser unterblieb, da ja, wie schon erwähnt, die Art der Zubereitung keinen Einflufs auf die Haltbarkeit des Fischfleisches ausübt.

An lebend gekauften Süfswasserfischen wurden verwendet:

1. Schleie,
2. Karpfen,
3. Plötze,
4. Barsch,
5. Hecht,
6. Aal.

Von Meerfischen, auf Eis liegend gekauft, wurden untersucht:

7. Häring,
8. Schellfisch,
9. Merlan,
10. Kabeljau,
11. Rochen.

Um auch bei diesen Versuchen ein möglichst vollständiges Bild geben zu können, wurden wiederum auch geräucherte, gesalzene und gedörrte Fische untersucht, und zwar:

von geräucherten Fischen:

12. Häring,
13. Bückling,
14. Aal,
15. Flunder,

von gesalzenen Fischen:

16. Häring,
17. Laberdan,

von gedörrten Fischen:

18. Stockfisch.

Bei diesen Versuchen stellten sich zunächst einige Fehlergebnisse ein. Die in steriles Papier eingewickelten Fische wurden zum Teil auf Tellern liegend, zum Teil auf einem Drahtgeflecht aufbewahrt. Sehr bald wurden die unteren Partien der Umhüllungen durch Feuchtwerden schadhaft, und konnten so an den betreffenden Stellen viel früher, als erwartet, Bakterien nachgewiesen werden.

Ein anderes Fehlresultat wurde erzielt durch den in diesem Falle nicht angebrachten Sparsamkeitssinn der Hausfrau, welche das sterile Papier, weil angeblich zu grofs, zerrifs. Durch das öftere Berühren und Ausbreiten auf dem Tisch hierbei ging natürlich die Sterilität des Papiers verloren. Das sterile Papier mufs, ohne unnötig berührt zu werden, schnell und in genügender Menge um den Fisch geschlagen werden, damit die Hülle möglichst dicht und ein Durchsickern abtropfender Flüssigkeit unmöglich wird.

Aber gerade diese Fehlergebnisse sind wiederum ein Beweis dafür, dafs vorsichtiges Behandeln und Aufbewahren der Fische von gröfster Bedeutung für die Haltbarkeit ihres Fleisches ist.

Späterhin wurden die eingewickelten Fische nur noch hängend mit den in den folgenden Tabellen gezeigten Ergebnissen aufbewahrt.

Tabelle XI.

Art der Zubereitung: gebacken. Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—16° C.

Nr	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch	Dauer der Aufbewahrung in sterilem Papier	Entnahme von Proben nach der Zubereitung: nach 3 Tagen aus Oberfläche	Innenfläche	Fleisch	nach 4 Tagen aus Oberfläche	Innenfläche	Fleisch	nach 5 Tagen aus Fleisch	nach 6 Tagen aus Fleisch	nach 7 Tagen aus Fleisch	nach 8 Tagen aus Fleisch
1	210	0	3 Tage	0	0	0	+ +	+	0	0	0	+	+ + +
2	250	0	3 »	0	0	0	+ +	+ +	0	0	0	0	+
3	240	0	3 »	0	0	0	+ + +	+ +	0	0	0	0	+
				nach 4 Tagen			nach 5 Tagen			nach 6 Tagen	nach 7 Tagen	nach 8 Tagen	nach 9 Tagen
4	180	0	4 Tage	0	0	0	+ +	+ +	0	0	0	+ +	
5	230	0	4 »	0	0	0	+ +	+	0	0	0	0	+ + +
6	250	0	4 »	0	0	0	+ +	+ +	0	0	0	0	0

Tabelle XII.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser. Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

Nr	Gewicht	vor	Dauer	nach 3 Tagen			nach 4 Tagen			nach 5 Tagen	nach 6 Tagen	nach 7 Tagen	nach 8 Tagen
1	220	0	3 Tage	0	0	0	+ +	+	0	0	0	0	+ +
2	220	0	3 »	0	0	0	+ +	+ +	0	0	0	0	+ +
3	210	0	3 »	0	0	0	+ +	+	0	0	0	+	
				nach 4 Tagen			nach 5 Tagen			nach 6 Tagen	nach 7 Tagen	nach 8 Tagen	nach 9 Tagen
4	210	0	4 Tage	0	0	0	+ + +	+ +	0	0	0	+ +	
5	200	0	4 »	0	0	0	+ +	+	0	0	0	+ +	
6	220	0	4 »	0	0	0	+ + +	+ +	0	0	0	0	0

Tabelle XIII.

Art der Zubereitung: gebacken. Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—16° C.

Nr.	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch	Dauer der Aufbewahrung in sterilem Papier	Entnahme von Proben nach der Zubereitung							
				nach 3 Tagen aus		nach 4 Tagen aus		nach 5 Tagen aus Fleisch	nach 6 Tagen aus Fleisch	nach 7 Tagen aus Fleisch	nach 8 Tagen aus Fleisch
				Oberfläche	Fleisch	Oberfläche	Fleisch				
7	230	0	3 Tage	0	0	+ +	0	0	0	0	+ + +
8	250	0	3 »	0	0	+ +	0	0	0	0	+ +
9	250	0	3 »	0	0	+ +	0	0	0	0	+ +
				nach 4 Tagen		nach 5 Tagen		nach 6 Tagen	nach 7 Tagen	nach 8 Tagen	nach 9 Tagen
10	250	0	4 Tage	0	0	+	0	0	0	0	+ +
11	250	0	4 »	0	0	+ +	0	0	0	+	+ +

Tabelle XIV.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser. Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

				nach 3 Tagen		nach 4 Tagen		nach 5 Tagen	nach 6 Tagen	nach 7 Tagen	nach 8 Tagen
7	225	0	3 Tage	0	0	+ +	0	0	0	+	+ + +
8	250	0	3 »	0	0	+ + +	0	0	0	0	+ +
9	250	0	3 »	0	0	+ +	0	0	0	0	+ +
				nach 4 Tagen		nach 5 Tagen		nach 6 Tagen	nach 7 Tagen	nach 8 Tagen	nach 9 Tagen
10	250	0	4 Tage	0	0	+ +	0	0	0	0	+ +
11	250	0	4 »	0	0	+ +	0	0	0	0	+ +

Tabelle XV.

Art der Zubereitung: gebacken.

. Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 13—15° C.

Nr.	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch	Dauer der Aufbewahrung in sterilem Papier	Entnahme von Proben nach der Zubereitung							
				nach 3 Tagen aus		nach 4 Tagen aus		nach 5 Tagen aus Fleisch	nach 6 Tagen aus Fleisch	nach 7 Tagen aus Fleisch	nach 8 Tagen aus Fleisch
				Oberfläche	Fleisch	Oberfläche	Fleisch				
12	220	0	3 Tage	0	0	++	0	0	0	0	++
13	180	0	3 »	0	0	++	0	0	0	+	
14	250	0	3 »	0	0	++	0	0	0	0	0
15	240	0	3 »	0	0	++	0	0	0	+	++

Tabelle XVI.

Art der Zubereitung: gebacken.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

Nr	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus dem Fleisch		Dauer der Aufbewahrnng in sterilem Papier	Entnahme von Proben nach der Zubereitung							
		vor der Wässerung	nach der Wässerung		nach 3 Tagen aus		nach 4 Tagen aus		nach 5 Tagen aus Fleisch	nach 6 Tagen aus Fleisch	nach 7 Tagen aus Fleisch	nach 8 Tagen aus Fleisch
					Oberfläche	Fleisch	Oberfläche	Fleisch				
16	220	0	0	3 Tage	0	0	++	0	0	0	+	++

Tabelle XVII.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser.

Nr	Gewicht des Fisches Gramm	vor der Wässerung	nach der Wässerung	Dauer der Aufbewahrnng in sterilem Papier	nach 3 Tagen Oberfläche	nach 3 Tagen Fleisch	nach 4 Tagen Oberfläche	nach 4 Tagen Fleisch	nach 5 Tagen aus Fleisch	nach 6 Tagen aus Fleisch	nach 7 Tagen aus Fleisch	nach 8 Tagen aus Fleisch
16	200	0	4 Kolon	3 Tage	0	0	+	0	0	0	+	++
17	250	0	0	3 »	0	0	++	0	0	0	0	++

Tabelle XVIII.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser.

Nr	Gewicht des Fisches Gramm	vor der Wässerung	nach der Wässerung	Dauer der Aufbewahrnng in sterilem Papier	nach 3 Tagen Oberfläche	nach 3 Tagen Fleisch	nach 4 Tagen Oberfläche	nach 4 Tagen Fleisch	nach 5 Tagen aus Fleisch	nach 6 Tagen aus Fleisch	nach 7 Tagen aus Fleisch	nach 8 Tagen aus Fleisch
18	250	0	+	3 Tage	0	0	+	0	0	0	0	+++

Weiterhin wurden zwei Fische — ein Weifsfisch und ein Aal — in Gelee aufbewahrt und untersucht. Um einerseits die Verhältnisse derart darzustellen, wie sie im Haushalte geübt werden, andererseits um kein Fehlresultat zu erhalten, bediente ich mich hierbei bei der Einbettung der beiden Fische in die Geleemasse einer gelegentlich in Norddeutschland kennen gelernten Methode. In die gut gereinigte, aber nicht sterilisierte, zum Aufbewahren der Fische dienende Schüssel wurden mehrere ausgekochte Fäden kreuzweise so gelegt, dafs sie einige Zentimeter vom Boden derselben entfernt waren. An den über den Rand der Schüssel heraushängenden Enden wurden Gewichte befestigt, um ein Untersinken der Fäden in der Geleemasse nach der Belastung mit den Fischen zu verhindern. In die auf Eis stehende Schüssel wurde nun zunächst bis zur Höhe der Fäden von der flüssigen Geleemasse, welche mittels Agar-Agar hergestellt worden war, gegossen; dann wurden mit einem ausgekochten Löffel die Fische auf die Fäden gelegt und danach mit dem Reste der Geleemasse zugedeckt. Da mittlerweile der untere Teil der Agarmasse erstarrt, mithin ein weiteres Untersinken der Fische nicht zu befürchten war, wurden die Fäden an der einen Seite an der Eintrittsstelle in die Geleemasse abgeschnitten und auf der anderen Seite herausgezogen. Die unbedeutenden Löcher schlossen sich sofort. Die auf diese Weise möglichst steril unter vollkommenem Luftabschlufs eingebetteten Fische wurden mehrere Tage aufbewahrt, dann aus der Geleemasse herausgeschält und noch einige Tage trocken aufbewahrt, und während dieser Zeit aus dem Fleisch Proben entnommen.

Tabelle XIX.

Art der Zubereitung: gekocht in Gelee. Essigsalzwasser mit Agarzusatz.
Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 12—15° C.

Nr.	Gewicht der Fische Gramm	Entnahme v. Proben vor d. Zubereitung aus dem Fleisch	Dauer der Aufbewahrung in Gelee	Entnahme von Proben nach der Zubereitung: nach 4 Tagen aus Oberfläche	nach 4 Tagen aus Fleisch	nach 5 Tagen aus Oberfläche	nach 5 Tagen aus Fleisch	nach 6 Tagen aus Fleisch	nach 7 Tagen aus Fleisch	nach 8 Tagen aus Fleisch	nach 9 Tagen aus Fleisch
1	240	0	4 Tg.	0	0	++	0	0	0	0	++
2	240	0	4 »	0	0	+++	0	0	0	0	0

Die vorliegenden Versuche haben übereinstimmend wieder den Beweis geliefert, dafs, je vorsichtiger die Fische behandelt und aufbewahrt werden, desto länger es möglich ist, ihr Fleisch steril zu erhalten. Dadurch dafs die Oberfläche der Fische von aufsen, sei es durch steriles Papier, sei es durch die Geleemasse geschützt war, konnte das Fischfleisch mehrere Tage vollkommen, also auch die Oberfläche, steril erhalten werden. Nach Herausnahme aus den schützenden Umhüllungen erhielt sich das Fleisch, mit Ausnahme natürlich der oberflächlichen Partien, gerade so lange steril, wie dasjenige der in den ersten Versuchsreihen ohne Schutzhüllen aufbewahrten Fische.

Um auch über die Verhältnisse bei niederer Temperatur sowie bei dem höheren Feuchtigkeitsgehalt, wie er im Eisschrank herrscht, Aufschlufs geben zu können, wurde im Institute selbst noch ein gekochter und ein gebackener Weifsfisch im Eisschrank, in steriles Papier eingewickelt, aufbewahrt.

Auch hier war das Ergebnis, wie vorauszusehen, dafs das Fleisch bei vorsichtiger Aufbewahrungsweise längere Zeit steril bleibt.

Tabelle XX.

Art der Zubereitung: 1. gekocht in Salzwasser, 2. gebacken.

Temperatur im Eisschrank: 5—6° C.

Nr.	Gewicht d. Fisches Gramm	Entnahme von Proben nach der Zubereitung aus dem Fleisch					
		nach 1 Tag	nach 3 Tg.	nach 4 Tg.	nach 5 Tg.	nach 7 Tg.	nach 8 Tg.
1	200	0	0	0	0	0	0
2	200	0	0	0	0	0	+ +

Zum Schlusse wurde noch folgender Versuch unternommen: Zwei gekochte Karpfen wurden nach 48 Stunden, nachdem also, wie auch die Tabelle zeigt, die oberflächlichen Schichten schon durch Bakterien verunreinigt waren, noch einmal ungefähr ¼ Stunde lang in 90° heifses Wasser gelegt. Kochendes Wasser wurde nicht benutzt, da durch die Wellenbewegungen desselben ein sofortiges Zerfallen der Fische zu befürchten gewesen wäre. Der Geschmack dieser aufgewärmten Fische war jedoch nicht

angenehm. Derselbe dürfte wohl dem Umstande zuzuschreiben sein, dafs durch den zweiten Erhitzungsprozefs wohl die Bakterien abgetötet sind, aber ihre Zersetzungsprodukte dem Fische mitgeteilt bleiben. Auch war, wie die Tabelle zeigt, eine Verlängerung der Haltbarkeitsdauer für diese Tiere nicht zu erzielen gewesen.

Tabelle XXI.

Art der Zubereitung: gekocht in Salzwasser.

Temperatur des Aufbewahrungsraumes der Fische: 13—15° C.

Nr.	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus		Entnahme von Proben nach der ersten Zubereitung					
				nach 24 Stunden aus			nach 48 Stunden aus		
		Fleisch	Leibeshöhle	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch
1	240	0	0	+ +	+ +	0	+++	+ +	0
2	250	0	2 Kol.	+ +	+	0	+++	+++	0

Nr.	Gewicht des Fisches Gramm	Entnahme von Proben vor der Zubereitung aus		Entnahme von Proben nach der zweiten Zubereitung								
				nach 1 Stunde aus			nach 10—12Std. aus			am 2. Tag aus Fleisch	am 3. Tag aus Fleisch	am 4. Tag aus Fleisch
		Fleisch	Leibeshöhle	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch	Oberfläche	Innenfläche	Fleisch			
1	240	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	++
2	250	0	2 Kol.	0	0	0	++	+	0	0	0	++

Durch das vorliegende reichliche Material ist der Beweis erbracht, dafs das Fischfleisch nach der Zubereitung steril ist.

Zwar gehen die Fische nach der Bereitung leicht zugrunde, wie Ulrich zu Recht bewiesen hat, dadurch dafs Bakterien von der Oberfläche in die Tiefe dringen. Verfährt man aber vorsichtig in der von mir angegebenen Weise, so wird die Zersetzung des zubereiteten Fischfleisches verzögert, und sie wird für einige Tage selbst verhindert, wenn die Fische in der von mir beschriebenen Art verpackt und hängend aufbewahrt werden.

Dieser Umstand dürfte für die Praxis wohl verwertbar sein. Selbstverständlich müfste bei der Beurteilung derartig auf-

bewahrter Fische, wenn zum Genuſs bestimmt, äuſserst vorsichtig verfahren werden und jede Veränderung durch Geruch und Geschmack scharf zu beobachten sein.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Professor Forster für die Überweisung des Themas sowie die mannigfachen Anregungen und Ratschläge meinen besten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. M. Müller: Über das Wachstum und die Lebenstätigkeit von Bakterien, sowie den Ablauf fermentativer Prozesse bei niederer Temperatur unter spezieller Berücksichtigung des Fleisches als Nahrungsmittel. Archiv für Hygiene, Band XLVII.
2. S. Ulrich: Über den Bakteriengehalt des Fischfleisches. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Band 53.
3. Forster: Über die Entwickelung von Bakterien bei niederen Temperaturen. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Band II.
4. Marxer: Beitrag zur Frage des Bakteriengehaltes und der Haltbarkeit des Fleisches bei gewöhnlicher Aufbewahrung. I.-D. Straſsburg 1903.
5. Buchner, Longard, Riedlin: Über die Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Band II.
6. Presuhn: Zur Frage der bakteriologischen Fleischbeschau. I.-D. Straſsburg 1898.
7. Havemann: Über das Wachstum von Mikroorganismen bei Eisschranktemperatur. J.-D. Rostock 1894.
8. Fischer: Bakterienwachstum bei 0°. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Band IV.
9. Luchhau: Über die Magen- und Darmverdauung bei einigen Fischen. I.-D. Königsberg 1878.
10. Voirin: Der tierärztliche Sachverständige in seiner Beziehung zum Handel mit Fischen. Froehner-Wittlinger: Der preuſsische Kreistierarzt, Band III.
11. Ostertag: Handbuch der Fleischbeschau.
12. Forster: Ernährung und Nahrungsmittel. Pettenkofer und Ziemssen. Handbuch der Hygiene, Band I.
13. Birch-Hirschfeld: Pathologische Anatomie, Band II.
14. Hofer: Handbuch der Fischkrankheiten. Stuttgart 1906.
15. Brieger und Hempner: Beitrag zur Lehre von der Fleischvergiftung. Deutsche medizinische Wochenschrift 1897.

16. Kobert: Über Giftfische und Fischgifte. Stuttgart 1905.
17. Schreiber: Über Fischvergiftung. Berliner klinische Wochenschrift 1884.
18. v. Sobbe: Ein bemerkenswerter Fall von Fischvergiftung. Ebenda 1884.
19. Stoll: Mitteilung über 7 Fälle von Fischvergiftung an der medizinischen Poliklinik Zürich. Korrespondenzblatt für Schweizer Ärzte 1905.
20. Fischel und Enoch: Ein Beitrag zu der Lehre von den Fischgiften. Fortschritte der Medizin 1892.
21. Arustamow: Über die Natur des Fischgiftes. Therapeutische Monatshefte 1892.
22. Smolenski: Das Fischfleisch in hygienischer Beziehung. Hygienische Rundschau 1897.
23. Schmidt-Nielsen: Über Pökelversuche mit Fischfleisch. Alb. Cammermeyers Forlag.
24. Schmidt-Nielsen: Über den Reifungsvorgang beim Pökeln von Häringen. Trondjem 1902.

Morphologische und biologische Beeinflussung der Bakterien durch Kalk mit spezieller Berücksichtigung der Kalkdesinfektion.

Von

Dr. P. Auer.

(Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut der Universität Bern. Direktor: Prof. Dr. W. Kolle.)

Von den zahlreichen chemischen Mitteln, die in den letzten Jahren zu Desinfektionszwecken empfohlen wurden, sind viele ebenso rasch wieder verschwunden als sie seinerzeit aufgetaucht waren. Nicht immer waren es mangelhafte Resultate, welche eine Verwendung dieser neuen Mittel in Frage stellten, vielmehr gab es auch solche unter ihnen, deren Wirksamkeit gegenüber pathogenen Bakterien durch Laboratoriumsversuche sicher erwiesen war, die sich aber gleichwohl aus praktischen Gründen nicht als Desinfiziens eigneten. Für die Praxis kommen eben mancherlei Faktoren in Betracht, die bei den Prüfungen des desinfektorischen Effektes meist nicht berücksichtigt werden. Schädigende Wirkungen auf Gebrauchsgegenstände, schlechter Geruch, Giftigkeit oder sonstige unangenehme Nebeneigenschaften und nicht zuletzt der Preis können die Brauchbarkeit eines Mittels ausschliefsen, trotzdem seine Desinfektionskraft eine bedeutende ist.

Ein Desinfektionsmittel, dem die eben erwähnten ungünstigen Eigenschaften fehlen, das aufserdem sehr billig und überall leicht zu bekommen ist, besitzen wir schon lange im Ätzkalk.

Bereits in der Mitte des vorigen Jahrhunderts wurde der Kalk vielfach in Form der Süvernschen Desinfektionsmasse ange-

wendet, einer Mischung, die aus 100 Teilen Ätzkalk, 8 Teilen Steinkohlenteer und 33 Teilen Chlormagnesium bestand und mit Wasser zu einem Liter angerührt wurde. Damals handelte es sich freilich zunächst nicht darum, Krankheitserreger abzutöten, als vielmehr eine chemische Fällung und Ausscheidung der das Wasser verunreinigenden organischen und mineralischen Stoffe herbeizuführen[1]. Eine scharfe Grenze wurde zu jener Zeit zwischen Desinfektion und Desodorisation nicht gezogen und man schrieb daher dem Süvernschen Mittel auch eine desinfizierende Wirkung zu, da das mit ihm behandelte Wasser geruchlos war.

1869 stellten Virchow und Hausmann[2]) mit der Süvernschen Mischung Versuche an, um zu konstatieren, inwieweit sich dieselbe zur Desinfektion von Kanalwasser eignet. Es stellte sich dabei heraus, dafs schon der Zusatz von 1 bis 5% Ätzkalk allein genügte, um die zahlreichen niederen Organismen, die sich im Kanalwasser befanden, aus dem geklärten Wasser verschwinden zu lassen. Im Bodensatz waren sie zwar noch zu erkennen, hatten aber ihre frühere Beweglichkeit eingebüfst[3]). Nach sechs bis zwölf Tagen konnten darin wieder reichlich Bakterien nachgewiesen werden.

Im Jahre 1873 wurde dann der Ätzkalk von der deutschen Cholerakommission[4]) als Desinfektionsmittel empfohlen. In der von dieser Körperschaft ausgearbeiteten Denkschrift heifst es: Von den ferment- und keimtötenden Substanzen eignen sich Ätzkalk und Ätznatron zur Desinfektion verschiedener Objekte, jedoch sind diese Stoffe mit Rücksicht auf die alsbald eintretende Umwandlung derselben in kohlensaure Salze stets im Überschufs anzuwenden, im Durchschnitt dürften die flüssigen und festen Exkremente 25 bis 30 g gutgebrannten Kalk oder sein Äquivalent an Ätznatron in der Form einer Lauge pro Kopf und Tag erfordern, wenn die Exkremente in zuvor entleerten Gruben oder Tonnen gesammelt werden. Frische Kalkmilch eignet sich zum Desinfizieren von allen Gegenständen, welche damit bestrichen (geweifst) werden können.

Systematische Versuche über die Wirkung des Kalkes wurden von der Kommission damals nicht angestellt. Dies geschah

zuerst durch Robert Koch, der neben einer grofsen Reihe anderer Mittel auch den Kalk methodisch auf seine desinfizierende Wirkung hin untersuchte. Seine Ergebnisse hat Koch[5]) in einer grundlegenden Arbeit »Über Desinfektion« aus dem Jahre 1881 niedergelegt.

Robert Koch untersuchte genauer nur die Karbolsäure, das Chlorzink und die schweflige Säure. Daneben prüfte er auch das Kalkwasser, eine wässerige 5%proz. Chlorkalklösung und konzentrierte Chlorcalciumlösung in ihrer Wirkung auf an Seidenfäden angetrocknete Milzbrandsporen. Seine Resultate waren folgende:

Kalkwasser: Nach fünf und zehn Tagen kein Einflufs, nach 15 und 20 Tagen lückenhaftes und verspätetes Wachstum.

Chlorkalk: Nach einem Tage Wachstum etwas verzögert, aber kräftig. Nach zwei Tagen lückenhafte Entwicklung. Nach fünf Tagen keine Entwicklung mehr.

Konzentrierte Chlorcalciumlösung: Nach vierzig Tagen noch kein Einflufs nachweisbar.

Diese Kochschen Untersuchungen benutzte Liborius[6]) als Ausgangspunkt weiterer Arbeiten. Als Versuchsobjekte benüzte Liborius bei seinen Vorversuchen faulende Bouillon, die er sich durch Infektion von neutralisierter Rinderbouillon mit Spreewasser bereitete und ferner Kanalwasser aus den Berliner Kanalisationsanlagen. Den Kalk wandte er bei diesen Versuchen, ebenso wie später bei den Versuchen mit Reinkulturen, in Form des Kalkwassers an, dessen Gehalt durch Titration mit $^1/_{10}$ Normal-Schwefelsäure bestimmt wurde und zwischen 0,1344 und 0,1232% schwankte. Mit diesem Kalkwasser versetzte er bestimmte Quantitäten der Versuchsflüssigkeit in verschiedenen Verhältnissen und entnahm in gewissen Intervallen Proben von der Oberfläche der Gemische zum Überimpfen in Nährgelatine.

Das Resultat dieser Versuche war, dafs von den verschiedenen in der faulenden Bouillon vorhandenen Mikroorganismen bei einem anfänglichen Kalkgehalt von ungefähr 0,09% weitaus

der gröfste Teil schon innerhalb eines Tages zugrunde ging. Die weniger resistenten Keime waren zeitweilig in ihrer Entwicklung gehemmt und vermehrten sich erst wieder nach geraumer Zeit, als vermutlich der Gehalt an gelöstem Kalk bis zu einem gewissen Grade abgenommen hatte.

Auch bei seinen Versuchen mit Kanalwasser kam Liborius zu ganz ähnlichen Resultaten. Die oberflächlichen Schichten enthielten bei einem anfänglichen Kalkgehalt von ungefähr 0,09% während einer Reihe von Tagen keine lebensfähigen Keime mehr, während Impfungen aus dem Bodensatze durchweg positive Resultate ergaben.

Daran anschliefsend stellte Liborius Versuche an über das Verhalten von Reinkulturen von Typhusbazillen und Choleravibrionen dem Kalkwasser gegenüber. Er impfte 50 ccm Bouillon mit Typhus- und Cholerabakterien und verdünnte dann die Bouillonkultur mit 1½ Liter Wasser. Von dieser Aufschwemmung brachte er bestimmte Mengen in Erlenmeyersche Kolben und setzte Kalkwasser hinzu.

Das Hauptresultat dieser Liboriusschen Versuche ist, dafs ein anfänglicher Kalkgehalt von 0,0074% genügte, um alle in der Versuchsflüssigkeit enthaltenen Typhuskeime dauernd zu vernichten. Ebenso vernichtete ein anfänglicher Gehalt von 0,0246% Kalk bei sechsstündiger, vielleicht auch schon bei kürzerer Einwirkung alle in der Versuchsflüssigkeit vorhandenen Cholerakeime.

Bei Versuchen, die Liborius mit Kalkmilch anstellte, ergab sich, dafs selbst ein Zusatz von nur 10 ccm 20proz. Kalkmilch zu einem halben Liter künstlicher Choleradejektionen hinreichte, um völlige Desinfektion zu bewirken und zwar wahrscheinlich schon innerhalb weniger Stunden, jedenfalls aber im Laufe eines Tages.

Versuche mit Ätzkalkpulver hatten das Ergebnis, dafs ein Zusatz von nur 2 g pulverisierten Ätzkalkes genügte, um ein halbes Liter künstlicher Choleradejektionen binnen 3½ Stunden völlig zu desinfizieren.

Schlechter waren die Ergebnisse mit rohem gebranntem Kalk, von dem 10 g erforderlich waren, um innerhalb fünf Stunden alle vorhandenen Cholerakeime abzutöten.

Kitasato[7]), der im folgenden Jahre die Untersuchungen von Liborius fortsetzte, wandte eine andere Methode an. Er versetzte nämlich neutrale Nährgelatine mit Kalkwasser, liefs dieselbe erstarren und machte dann darauf eine Aussaat von Typhusbazillen. Bei Zusatz von 0,0767 bis 0,0805% wuchsen die Typhusbazillen nicht mehr.

Auch bei den Versuchen mit Bouillonkulturen erhielt Kitasato höhere Werte als Liborius. Dieser hatte einen Kalkgehalt von 0,0074% für genügend erklärt, um Typhusbazillen in Bouillon zu töten, Kitasato bedurfte hierzu 0,0923 bis 0,0966% Kalk, also fast 13mal so viel.

Der Unterschied erklärte sich, wie gemeinsame Versuche von Kitasato und Liborius ergaben, daraus, dafs Liborius seine Bouillonkultur 15fach mit destilliertem Wasser verdünnte und dann Kalkwasser zusetzte, während Kitasato unverdünnte Bouillonkulturen benützte, bei welchen der Gehalt des Kalkwassers durch Umsetzung verringert wurde. Aus dem gleichen Grunde bedurfte Kitasato zur Abtötung der Choleraspirillen eines stärkeren Kalkgehaltes, nämlich 0,0986 bis 0,1004%, als Liborius angegeben hatte (0,0246%).

Jaeger[8]) benutzte bei seinen Versuchen sterilisierte Seidenfäden, die mit den Reinkulturen der Infektionserreger bzw. mit den Organsäften von Tieren, die den betreffenden Infektionen erlegen waren, imprägniert und dann auf Brettern fixiert wurden. Die Übertragung der Desinfektionsmittel auf die infizierten Fäden geschah durch einmaliges bezw. mehrmaliges, in gewissen Zeiträumen wiederholtes Überstreichen der Bretter mittels eines Pinsels. Am folgenden Tage wurden Stücke aus den in dieser Weise behandelten Fäden ausgeschnitten und auf Nährböden übertragen bzw. auf Tiere verimpft.

Jaeger stellte sich vier Mischungen her:

1.	1	Teil	Kalk	auf	20	Teile	Wasser
2.	1	»	»	»	5	»	»
3.	1	»	»	»	2	»	»
4.	1	»	»	»	1	»	»

Neben den pathogenen untersuchte Jaeger auch nicht pathogene Mikroorganismen auf ihr Verhalten zum Kalk. Bei den pathogenen Bakterien genügte z. B. zur Abtötung von Typhus- und Milzbrandbazillen ein einmaliger Kalkanstrich 1 : 2. Zur Vernichtung der Hühnercholera war ein einmaliger Anstrich mit einer Kalkmilch 1 : 20 erforderlich u. s. w. Gegen Milzbrandsporen und Tuberkelbazillen erwies sich ein dreimaliger Kalkanstrich 1 : 1 unwirksam.

Giaxa[9]) hält die Zeit von zwei Stunden, während welcher Jaeger den Kalk hatte einwirken lassen, für zu kurz. Er wartete bei seinen Versuchen 24 bis 48 Stunden, bevor er die übertünchte Wand untersuchte und benutzte 20proz. und 50proz. Kalkmilch. Die getünchten Stellen wurden nach einiger Zeit, wenn der Kalk etwas getrocknet war, mit frischen Kulturen der zu untersuchenden Mikroorganismen befeuchtet.

Diese Versuchsanordnung ergab folgende Resultate: Milzbrandbazillen wurden auf den mit 20proz. und den mit 50proz. Kalkmilch getünchten Stellen vernichtet, Sporen dagegen blieben selbst bei Anwendung einer 50proz. Kalkmilch nach 48 Stunden noch lebensfähig. Zur Vernichtung der Typhusbazillen war die 24stündige Einwirkung einer 50proz. Kalkmilch erforderlich.

Cholerabazillen waren schon auf den mit 20proz. Kalkmilch getünchten Stellen nach sechs Stunden gestorben.

Staphylococcus pyogenes aureus wurde nach 40 Stunden mit der 50proz. Kalkmilch abgetötet, die 20proz. Lösung genügte nicht.

Tuberkel- und Tetanusbazillen endlich wurden selbst auf der mit 50proz. Kalkmilch getünchten Wand in 48 Stunden weder abgetötet noch in ihrer Virulenz abgeschwächt.

Ähnliche Versuche wie Giaxa und Jaeger stellte Cronberg[10]) an.

Neben anderen Mitteln wandte er zur Wohnungsdesinfektion auch eine 20proz. Kalkmilch an. Mit dieser übertünchte er eine Kalkwand, die er zweimal mit Staphylokokken infiziert hatte. Proben der Wand, nach sechs Stunden in Nährgelatine gebracht, ergaben reichliches Wachstum, nach 24 Stunden hingegen fand keine Entwicklung statt.

Pfuhl[11]) machte praktische Versuche mit Kalk. Er setzte Typhusdejektionen Kalkstücke in bestimmten Mengen unter wiederholtem Umschütteln zu. Das Resultat war, dafs eine gröfsere Menge des Desinfektionsmaterials (6%) notwendig war, um in zwei Stunden eine vollkommene Desinfektion der Fäkalien zu bewerkstelligen. Pfuhl empfiehlt daher den einfach zerkleinerten gebrannten Kalk nicht, sondern gibt dem gelöschten Kalk und zwar am besten in Form von Kalkmilch den Vorzug. Diese erwies sich als ein ausgezeichnetes Desinfiziens, denn schon ein Zusatz von nur 2% einer 20proz. Kalkmilch hatte in einer Stunde sämtliche im Stuhl enthaltenen Typhusbazillen abgetötet. Dabei entspricht die 2proz. Kalkmilch einem Gehalt von 0,274% $Ca(OH)_2$. Das gleiche Resultat ergaben analoge Experimente mit Choleraentleerungen.

Im Anschlufs an diese Versuche gab Pfuhl[12]) praktische Winke zur Bereitung und Verwendung der 20proz. Kalkmilch bei der Desinfektion von Latrinen. Er empfiehlt, möglichst reines Material zu verwenden und nach dem Löschen des Kalkes die groben Beimengungen wegzuwerfen. Die Wirksamkeit der Desinfektion kontrolliert man am einfachsten durch Prüfung der Reaktion des Latrineninhaltes mit rotem Lakmuspapier. Wird dieses stark gebläut, so ist die Desinfektion ausreichend.

Unter den zahlreichen Desinfektionsmitteln, die Behring[13]) prüfte, befand sich auch der Kalk, den er besonders zur Desinfektion von Fäkalien und Abwässern empfohlen hat. Dabei betonte er, dafs man aus einem gewissen Intensitätsgrade der Bläuung des roten Lakmuspapieres nicht immer auf eine gelungene Desinfektion schliefsen könne, da bekanntlich unter der Mitwirkung der Fäulnisbazillen in der heifsen Jahreszeit im Latrineninhalt alkalische Gärungen entstehen, die mit der Bildung von

Ammoniak und Ammoniakverbindungen anorganischer und organischer Natur einhergehen, wodurch der Latrineninhalt schon an und für sich alkalisch gemacht wird.

Im Jahre 1892 stellte Pfuhl[14]) Versuche an, die die Höhe des Kalkzusatzes ermitteln sollten, der erforderlich ist, um Typhus- und Cholerabazillen in Abwässern in einer bestimmten kurzen Zeit zu vernichten. Er untersuchte Berliner Kanalwasser, das er sterilisierte und dann mit Typhus- und Cholerabazillen infizierte. Die Proben brachte er in Bouillon, den Kalk benützte er in Form des Kalkhydratpulvers.

Das Ergebnis war, dafs die Typhusbazillen bei einer 2 Stunden langen Einwirkung von 0,05 proz. Kalkhydrat absterben, desgleichen bei einstündiger Einwirkung von 0,1%. Die Cholerabazillen wurden noch rascher abgetötet; es genügte hierzu die 1 stündige Einwirkung von 0,05% Kalkhydrat.

Frisches, nicht sterilisiertes Kanalwasser erforderte $\frac{1}{2}$‰ mehr Kalk als das sterilisierte. Darnach ist mindestens ein Zusatz von 0,1% Kalkhydrat notwendig, wenn man frisches Kanalwasser in 1—1$\frac{1}{2}$ Stunden von Typhus- bzw. Cholerakeimen befreien will; dabei ist es unbedingt notwendig, dafs das Kanalwasser mit dem zugesetzten Kalk fortwährend in Bewegung ist.

Nach Grether[15]) sind gröfsere Mengen von Kalk als die von Pfuhl angegebenen erforderlich, um ein Abwasser dauernd steril zu erhalten.

Ein Kalkzusatz von 0,2% hatte eine vollständige Abtötung in der klaren überstehenden Flüssigkeit zur Folge; diese zeigte sich auch noch nach mehreren Wochen steril, während im Sediment immer lebende Keime nachweisbar waren. Im Berliner Kanalwasser waren es besonders vier Bakterienarten, die sich als unempfindlich gegen Kalk erwiesen, denen jedoch eine pathologische Bedeutung nicht zukam. Durch fraktionierten Zusatz des Kalkes zu Kanalwasser liefs sich die desinfizierende Wirkung des Kalkes steigern, doch dürfte diese Anwendungsweise im Grofsen wohl kaum durchführbar sein. (König[16].)

C. Fraenkel[17]) empfiehlt den Kalk zur vorläufigen Reinigung der Kesselbrunnen von Infektionsstoffen. Ein geringer Kalkge-

halt des Wassers kann seine Brauchbarkeit wenig in Frage stellen, dagegen ist seine Verwendung überall da angebracht, wo man Flüssigkeiten klären, sie von trübenden suspendierten und organisierten Beimengungen befreien will. Neben der rein mechanischen Fällung dieser Substanzen hat der Kalk meist auch die im Brunnenwasser enthaltenen Fäulniskeime und anderweitigen Mikroorganismen zu vernichten vermocht.

Th. Beyer[18]) stellte Versuche darüber an, ob sich das Kalkwasser auch zur Wäschedesinfektion eignet. Er benutzte dabei konzentriertes und 50proz. Kalkwasser und liefs es auf Typhusbazillen, Bacterium coli, Staphylococcus pyogenes aureus und Diphtheriebazillen einwirken.

Das Ergebnis war, dafs das Kalkwasser sich als wirksames Desinfektionsmittel bei Wäsche, die mit den oben genannten Mikroben infiziert war, erwiesen hatte. Zur sicheren Desinfektion mufs man die Wäsche 48 Stunden in gesättigtem Kalkwasser liegen lassen.

Mit Untersuchungen über die Desinfektion städtischer Abwässer vermittelst Kalk beschäftigten sich weiter noch Dunbar und Zirn[19]). Diese beiden Forscher konnten auf Grund ihrer Versuche mit den Hamburger Abwässern die Ergebnisse Pfuhls nicht bestätigen und fanden, dafs ein gröfserer Zusatz von Kalk notwendig war, um eine Abtötung der Bakterien herbeizuführen. Sie verwandten bei ihren Versuchen nicht sterilisiertes Kanalwasser und kamen zu dem Schlusse, dafs ein Zusatz von 4‰ Kalk erforderlich sei, um Choleravibrionen in genügend kurzer Zeit zu vernichten.

Ebenso fand auch Proskauer[20]) höhere Werte, als Pfuhl angegeben hatte. Als Testobjekt dienten ihm Koli-Bakterien, die widerstandsfähiger als Choleravibrionen und mindestens ebenso widerstandsfähig sind wie die Typhusbazillen. Zum Nachweis der Koli-Bakterien wurde die von Elsner[21]) angegebene Jodkali-Kartoffelgelatine benutzt. Nach Proskauer waren 0,25‰ Kalk erforderlich, um innerhalb 16 Minuten eine völlige Abtötung der Bakterien zu erzielen.

In einer Dissertation, die 1902 erschien, befafste sich J. B. Citron[22]) mit Versuchen über die desinfizierende Wirkung des

Kalkwassers und der Kalkmilch, die er auf Milzbrandbazillen einwirken liefs. Es stellte sich dabei heraus, dafs ein Kalkzusatz von 0,0933% CaO ausreichte, um in fünf Stunden, und ein solcher von 0,0985% CaO, um in einer Stunde Milzbrandbazillen sicher abzutöten. Ein Kalkzusatz von 0,07% CaO genügte, um in sechs Stunden die geklärte Bouillon zu desinfizieren, während der Bodensatz noch vermehrungsfähige Bazillen enthielt.

Mosebach[23]) liefs 20proz. Kalkmilch auf Kot einwirken, den er zuerst sterilisierte und dann mit Typhusreinkulturen anreicherte. Die Kalkmilch wurde bereitet aus gelöschtem Kalk, wie er in jedem Dorfe aus Kalkgruben zu haben ist. Ein Raumteil gelöschter Kalk mit $1\frac{1}{2}$ Raumteilen Wasser angerührt, ergibt eine 20proz. Kalkmilch. Diese Versuche ergaben, dafs beide Arten von Kalkmilch, sowohl die aus ungelöschtem als die aus gelöschtem Kalk hergestellte, gleich starke Desinfektionswirkungen besitzen. Zu Typhuskot in gleicher Menge zugesetzt, bedarf es einer zweistündigen Einwirkung, um sämtliche Typhusbazillen abzutöten.

Nach Karlinski[24]) erwiesen sich frisch gebrannter Kalk und frisch bereitete Kalkmilch als sehr wirksame Abtötungsmittel für Schweinepestkulturen. Bei Stalldesinfektionsversuchen zeigte es sich jedoch, dafs diese Mittel für gewöhnlich nicht ausreichend wirkten.

Im Gegensatz zu Karlinski sind Salmon und Smith[25]) bei ihren Desinfektionsversuchen mit Kalk schon früher zu weit günstigeren Ergebnissen gekommen. Kalkwasser, mit der dreifachen Menge destillierten Wassers verdünnt, genügte, um Hogcholerabakterien in Flüssigkeiten, welche so gut wie gar keine organische Substanz enthielten, in einer halben Stunde abzutöten. Sechsfach verdünntes Kalkwasser tötete die Bakterien in drei Stunden, während eine zwölffach verdünnte Lösung in 24 Stunden keine Abtötung verursachte. Es genügte also 0,03%, um die Bakterien in einer halben Stunde, 0,019%, um dieselben in drei Stunden abzutöten. Versuche mit Erde ergaben, dafs 0,75 bis 1% Kalk (in Form von Kalkmilch) Hogcholerabakterien abtötet.

Bezüglich der Erklärung der desinfizierenden Wirkung des Kalkes stehen sich verschiedene Anschauungen gegenüber.

So sagt z. B. Behring[26]), dafs der Ätzkalk nur als solcher und zwar vermöge seiner Laugenwirkung ein Desinfektionsmittel sei und dafs er seine Desinfektionskraft verliert, sobald er in Calciumkarbonat oder ein anderes Salz umgewandelt wird.

Nach Liborius dagegen ist es in hohem Grade unwahrscheinlich, dafs die Alkalescenz der Kalklösungen an sich die Abtötung der Typhus- und Cholerabazillen bedingt. Er vertritt die Ansicht, dafs die Wirkung des Kalkes auf seiner Eigenschaft, mit Kohlensäure eine unlösliche Verbindung einzugehen, beruht, d. h. dafs die Kohlensäure produzierenden Mikroben allmählich von einer Schicht kohlensauren Kalkes umgeben und erstickt werden.

A. Gärtner[27]) tritt dieser Auffassung von Liborius entgegen und behauptet, dafs der Ätzkalk einzig und allein durch seine Alkalescenz wirke.

Eine Mittelstellung nimmt Krüger[28]) ein, der die Kalkwirkung als eine Kombination der Alkalescenzwirkung und der mechanischen Wirkung auffafst und sie folgendermafsen erklärt: Schüttet man Kalkmilch in Wasser, so verbindet sich die CO_2 des Wassers mit dem Calciumhydrat zu Calciumkarbonat, welches im Wasser nahezu unlöslich, bei seiner Entstehung Niederschläge bildet; diese schliefsen die Mikroorganismen ein und führen sie in die Tiefe. Zu dieser starken mechanischen Wirkung tritt dann noch die chemische hinzu. Durch das Calciumhydrat, welches gelöst bleibt, wird in dem Wasser eine starke Alkalescenz erzeugt, welche die Bakterien in ihrer Vitalität zu schädigen geeignet ist.

Auch Citron[29]) stimmt der Erklärung von Krüger bei. Nach ihm ist es als sichere Tatsache aufzufassen, dafs die mechanische Wirkung des Kalkes bedingt wird durch Imprägnierung der Bakterienmembran in irgend einer Form mit Kalk, resp. dafs sie in eine Kalkverbindung selbst verwandelt wird.

Physiologisch können bei der Desinfektion mit Lösungen nach Krönig und Paul[30]) zwei Fälle eintreten, die die Abtötung der Bakterien bedingen. Einmal kann Membran und Protoplasma durch die Lösungen direkt zerstört werden, z. B. durch stark ätzende konzentrierte Mineralsäuren und Laugen, ferner

durch starke Oxydationsmittel, wie Permanganat in konzentrierten Lösungen oder:

Die Membran kann erhalten bleiben und die Lösung nach Durchdringung der Hülle auf das Protoplasma wirken. Beide Fälle können gleichzeitig stattfinden. Bei erhaltener Membran wird die Lösung in verschiedener Weise auf das Protoplasma einwirken.

1. Kann lediglich durch Konzentrationsverschiedenheiten des Protoplasmas und der Lösung dem Protoplasma Wasser entzogen oder zugeführt werden, wodurch die Lebenstätigkeit der Bakterien mehr oder weniger beeinflufst wird.
2. Können die gelösten Stoffe die Membran durchdringen und in chemische Wechselwirkung mit dem Protoplasma treten. In letzterem Falle wird die Desinfektionswirkung von der Geschwindigkeit abhängen, mit der die gelösten Stoffe die Membran durchdringen und von der Reaktion des betreffenden Mittels mit dem Protoplasma.

Soweit die Angaben in der Literatur über die Leistungsfähigkeit des Kalkes als Desinfektionsmittel und über die Ursachen seiner desinfektorischen Wirksamkeit.

Als Einleitung zu meinen, auf Veranlassung von Herrn Prof. Kolle unternommenen

eigenen Versuchen,

die im folgenden wiedergegeben sind, war ich zunächst bestrebt, die Menge des CaO festzustellen, welche erforderlich ist, um Cholera- und Typhusbazillen in Bouillonkulturen in einer bestimmten Zeit abzutöten.

Im Gegensatz zu Kitasato, welcher seine Versuche mit Kalkwasser anstellte, benutzte ich als Desinfiziens die 20proz. Kalkmilch. Diese stellte ich in der Weise dar, dafs ich 20 g reinsten Calcaria usta e marmore mit 10 g destillierten Wassers löschte und dann noch so viel destilliertes Wasser zufügte, dafs das Gesamtgewicht der Mischung 100 g betrug. Der Gehalt dieser Kalkmilch an $Ca(OH)_2$ wurde durch Titration mit Normaloxalsäure auf 12,58 % festgestellt. Hierauf wurden je fünf

Erlenmeyerkölbchen mit je 50 ccm einer 24stündigen gutgewachsenen Typhus- bzw. Cholerabouillonkultur beschickt und dieselben nach Anlegung von Kontrollplatten mit der 20proz. Kalkmilch im Verhältnis von 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 und 4,0 Gewichtsprozenten versetzt und nach wiederholtem Umschütteln bei Zimmertemperatur belassen. Nach 5, 10, 15 und 30 Minuten, sowie nach 1, 3 und 24 Stunden Einwirkung wurde von allen Kulturen Proben entnommen, in 10 ccm verflüssigten Agar übertragen und Platten gegossen.

Das Resultat dieses Versuches geht aus Tabelle I hervor, in der, wie in allen andern Tabellen, das Zeichen + Wachstum und — Sterilität bedeutet.

Diese Ergebnisse lassen sich dahin zusammenfassen, dafs die Typhusbazillen in Bouillonkulturen durch 0,1258% $Ca(OH)_2$ = 0,0952% CaO schon nach 60 Minuten abgetötet werden. Cholerabazillen dagegen durch dieselbe Quantität Kalk erst nach 24 Stunden und durch 0,1904% Calciumoxyd schon nach 10 Minuten. Ein Vergleich mit den von Kitasato gefundenen Werten ergibt vollständige Übereinstimmung der betreffenden Zahlen.

Im Anschlufs an die Arbeit von Pfuhl »Die Desinfektion der städtischen Abwässer mit Kalk« suchte ich festzustellen, wie viel trockenes Kalkhydratpulver nötig ist und wie lange dasselbe einwirken müsse, um Typhus- und Cholerabazillen, die in sterilisiertem und nicht sterilisiertem Berner Kanalwasser, sowie in sterilisierter und nicht sterilisierter Jauche enthalten waren, abzutöten.

Das Kanalwasser entnahm ich bei der städtischen Reitschule aus einem Schachte der Kanalisation. Es war stark opaleszierend getrübt, wurde aber nach dem Absetzen fast klar. Die Reaktion war neutral und ein Geruch nach Fäkalien nicht wahrnehmbar. Dieses frische Kanalwasser wurde in Quantitäten von je 50 ccm in Kölbchen abgefüllt und daraus zwei Serien gebildet, von welchen die eine 1¼ Stunden bei 115° in gespanntem Dampfe sterilisiert wurde, während die andere parallele Serie unsterilisiert blieb. Je drei Kölbchen dieser beiden Reihen erhielten Kalkzusätze in wechselnder Menge, indem dem ersten

der sterilisierten Kölbchen 0,5 ‰, dem zweiten 1 ‰, dem dritten 1,5 ‰, und dem ersten der nicht sterilisierten Kölbchen 1 ‰, dem zweiten 1,5 ‰ und dem dritten 2 ‰ trockenes $Ca(OH)_2$ zugefügt wurden. Auf diese Weise erhielt man zwei parallele Reihen von sterilisiertem und nicht sterilisiertem Kanalwasser mit wechselndem Kalkgehalt, in welche eine Öse Typhus- bezw. die gleiche Quantität El Tor-Bakterien übertragen wurde. Die Untersuchung erfolgte in der Weise, dafs nach der üblichen Anlegung von Kontrollplatten, nach 1, 3 und 24 Stunden von jedem Kölbchen Proben entnommen und in 10 ccm Nährbouillon gebracht wurden, die man dann 48 Stunden bei 37° beliefs.

Die gleiche Versuchsanordnung fand bei Jauche statt, die aus einer in der Nähe des Institutes befindlichen Grube stammte.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tabelle II und III dargestellt. Darnach wurden die Typhusbazillen in sterilem Kanalwasser durch 0,5 ‰ $Ca(OH)_2$ nach 24 Stunden abgetötet, in nicht sterilisiertem waren dagegen 2 ‰ $Ca(HO)_2$ nötig, um in derselben Zeit den gleichen Effekt zu erzielen.

El Tor-Bakterien waren in sterilisiertem Kanalwasser mit 0,5 ‰ schon nach 3 Stunden vernichtet, in nicht sterilisiertem Substrate wurden sie in der 2 ‰ Lösung in 3 Stunden abgetötet.

Noch ungünstiger gestalteten sich die Resultate bei den Versuchen mit Jauche. Hier waren bei der sterilisierten Jauche 1 ‰ $Ca(OH)_2$ erforderlich, um nach 24 Stunden die Typhusbazillen zu vernichten, in nicht sterilisierter brachten 1,5 ‰ $Ca(OH)_2$ im selben Zeitraum die gleiche Wirkung zustande.

Cholerabazillen waren nach 24 Stunden bei einem Zusatz von 0,5 ‰ $Ca(OH)_2$ aus der sterilisierten Jauche verschwunden, in nicht sterilisierter war eine Abtötung durch einen Zusatz von 1,5 ‰ $Ca(OH)_2$ nach 24 Stunden erfolgt.

Der erste dieser beiden Versuche bestätigt die von Dunbar und Zirn sowie auch von Proskauer hervorgehobene Tatsache, dafs der von Pfuhl angegebene Kalkzusatz von 0,1 % nicht genügt, um Typhus- und Cholerabazillen in 1 oder 1½ Stunden aus frischem Kanalwasser zu entfernen, und dafs hierzu in der Regel gröfsere Mengen erforderlich sind.

Im folgenden gehe ich nun zum speziellen Teil meiner Arbeit über. Ich werde mich zunächst mit der für die Praxis wichtigen Frage beschäftigen, ob sich aus einem Calciumhydroxyd, das lange Zeit im Freien der Einwirkung der Atmosphärilien ausgesetzt war, noch eine für die Desinfektion brauchbare Kalkmilch bereiten lasse.

Wie aus der Literatur ersichtlich, ist der gebrannte Kalk, das Calciumoxyd, zu Desinfektionszwecken nicht sehr geeignet. Er ist stets mehr oder weniger mit Magnesiumoxyd, Eisenoxyd, Ton und Kieselsäure verunreinigt, und kann unter Umständen, wenn letztere in grofsen Mengen vorhanden ist, totgebrannt sein, so dafs er sich mit Wasser überhaupt nicht mehr löscht und infolgedessen ganz unbrauchbar geworden ist. Zudem ist frischer Ätzkalk häufig schwer zu beschaffen und noch schwieriger aufzubewahren, da er aus der Luft begierig Wasserdampf und Kohlensäure aufnimmt und unter starker Erwärmung zu einem Gemisch von Calciumkarbonat und Calciumhydroxyd zerfällt.

Für die Praxis von viel gröfserer Bedeutung ist das Calciumhydroxyd, $Ca(OH)_2$, das durch Befeuchten des Calciumoxydes mit der Hälfte seines Gewichtes Wasser gewonnen wird und in jedem Dorfe aus Kalkgruben bezogen werden kann. Das Calciumhydroxyd hat vor dem Calciumoxyd den Vorzug, dafs es reiner ist als dieses, indem sich die groben mechanischen Beimengungen nach dem Löschen zu Boden setzen und entfernt werden können. Dagegen hat das Kalkhydrat mit dem gebrannten Kalk den Nachteil gemeinsam, dafs es ebenfalls eine grofse Affinität zur Kohlensäure besitzt und sich daher leicht zu Calciumkarbonat umsetzt. Mit der Bildung von unlöslichen Kalksalzen nimmt aber die Alkalescenz und damit auch die desinfizierende Wirkung des Calciumhydroxydes bedeutend ab, und theoretisch müfste man annehmen, dafs die Karbonatbildung mit der Länge der Zeit eine vollständige wird und der Kalk deshalb als Desinfiziens ganz unbrauchbar werden sollte.

Um diese Frage zu entscheiden, stellte ich die folgenden Versuche an, bei denen ich möglichst natürliche Verhältnisse nachzuahmen bestrebt war.

Mit Kalziumhydroxyd, das ich mir aus einem sog. Kalksumpf auf dem Werkplatze eines hiesigen Baumeisters verschaffte, füllte ich zwei grofse Kübel etwas über die Hälfte, bedeckte sie lose mit Brettern und stellte sie im Freien auf. Das $Ca(OH)_2$, das durch Löschen von Weifs- oder Fettkalk gewonnen war, hatte bei Beginn meiner Versuche eine dickbreiige Konsistenz; nach einigen Wochen schon bildete sich aber auf der Oberfläche des Kalkbreies eine feste, schützende Schicht, während die darunter befindlichen Partien gleichmäfsig feucht waren. Aus dem einen Kübel entnahm ich die zur Bereitung der 20proz. Kalkmilch erforderlichen Proben, den Inhalt des anderen dagegen benutzte ich, um den fortschreitenden Grad der Verwitterung des $Ca(OH)_2$ feststellen zu können.

Um eine möglichst gleichmäfsige und genaue Zusammensetzung der 20proz. Kalkmilch, die ich zu meinen Versuchen verwandte, zu erzielen, wurden die dem Kübel entnommenen Proben unter Luftabschlufs zwischen Lagen von Filtrierpapier bei 100° getrocknet. Von dem so hergestellten trockenen Kalkhydrat wurden 20 g mit 80 g destilliertem Wasser möglichst rasch im Porzellanmörser zu einer gleichmäfsigen Mischung angerieben.

Bei einigen späteren Versuchen, bei denen das Calciumhydroxyd nicht meinem Kübel entstammte, wandte ich eine andere Methode zur Darstellung der Kalkmilch an, auf die ich in den einzelnen Fällen zurückkommen werde.

Der Gesamtgehalt der Kalkmilch an gelöstem und ungelöstem $Ca(OH)_2$ wurde jeweils nach der sog. Restmethode durch Übersättigen mit Normaloxalsäure und Zurücktitrieren mit Normalnatronlauge auf folgende Weise bestimmt: Nach kräftigem Umschütteln wurden 5 ccm Kalkmilch in einem Mefszylinder abgemessen, in ein Becherglas gebracht und die im Mefszylinder anhaftenden Teile mit 10 ccm destilliertem Wasser nachgespült. Dann wurden mittels Pipette 10 ccm Normaloxalsäure zugesetzt, einige Tropfen Phenolphthaleinlösung als Indikator beigegeben und mit Normalnatronlauge zurücktitriert. Wurden z. B. von

der Normalnatronlauge bis zur bleibenden Rötung 2,1 ccm verbraucht, so entspricht dies 5,846 % $Ca(OH)_2$

$$10{,}0-2{,}1 = 7{,}9 \text{ Normaloxalsäure,}$$
$$15{,}8 \cdot 0{,}37 = 5{,}846\,\%\ Ca(OH)_2.$$

Eine Pipette konnte zum Abmessen der Kalkmilch nicht gebraucht werden, weil sie sich stets mit dem ungelösten Calciumhydroxyd und gelegentlichen anderen Beimengungen verstopfte. Da sich aber mit dem Meſszylinder nicht ganz scharf abmessen läſst, anderseits trotz kräftigen Schüttelns nicht immer gleich viel von dem suspendierten $Ca(OH)_2$ in das Becherglas gelangt, so fielen die Resultate der einzelnen Titrationen nicht ganz gleichmäſsig aus. Um trotzdem möglichst genaue Werte zu erhalten, wurden bei jedem Versuche vier Titrationen ausgeführt und aus diesen die Durchschnittszahl zur Berechnung herangezogen. Normalsalz- oder Salpetersäure konnte man zur Titration nicht benutzen, weil durch diese auch der unwirksame kohlensaure Kalk bestimmt wird, während für uns bei der Kalkmilch nur die Menge des wirksamen als $Ca(OH)_2$ vorhandenen Kalkes von Wichtigkeit ist.

Als Testobjekt dienten mir bei diesen Desinfektionsversuchen mit 20proz. Kalkmilch 24stündige Agarkulturen von Typhus- und El Tor-Bakterien.

Die Jauche stammte aus einer in der Nähe des Institutes befindlichen Grube; sie hatte schwach ammoniakalischen Geruch, alkalische Reaktion und zeigte wenige feste Bestandteile.

Neben frischer Jauche wurde beim gleichen Versuch auch sterilisierte verarbeitet, um den verschiedenen Grad der Umsetzung des Kalkes in beiden Medien beobachten zu können. Daſs in frischer Jauche, welche auſser der Kohlensäure der Luft auch noch die von den Bakterien produzierte enthält, die Karbonatbildung eine viel lebhaftere ist, als in der nicht sterilisierten Jauche, ist ohne weiteres klar. Deshalb erfordert erstere auch einen gröſseren Kalkmilchzusatz, wenn man in annähernd gleicher Zeit denselben Desinfektionseffekt erzielen will.

Aber auch physikalisch macht sich beim Versetzen von frischer und sterilisierter Jauche mit Kalkmilch ein Unterschied

bemerkbar, denn während in der sterilisierten Brühe der geringe Niederschlag sich feinkörnig unter mangelhafter Klärung absetzt, fällt er in nicht sterilisierter Jauche sehr voluminös und in grofsen Wolken aus, wobei eine vollkommenere Klärung erreicht wird. Den Niederschlag filtrierte ich öfter ab, wusch ihn mit destilliertem Wasser aus und behandelte ihn mit verdünnter Salzsäure, in der er sich unter starkem Schäumen und Aufbrausen zu einer gelblich gefärbten Flüssigkeit löste. Auf dem Filter blieben nur wenige organische Bestandteile zurück. Aus dieser salzsauren Lösung wurde nach dem Neutralisieren durch Ammoniumoxalat das Calcium wieder ausgefällt, ein Beweis dafür, dafs der Niederschlag fast ausschliefslich aus $CaCO_3$ bestand.

Die Anordnung der Desinfektionsversuche mit der 20proz. Kalkmilch war eine ähnliche, wie bei den früher schon beschriebenen, mit Kanalwasser und pulverförmigem $Ca(OH)_2$ ausgeführten Untersuchungen.

In sechs Erlenmeyerkölbchen wurden je 100 ccm Jauche gebracht und drei Kölbchen im Autoklaven $1\frac{1}{2}$ Stunden lang erhitzt, nach welcher Zeit ihr Inhalt vollständig steril war, wie ich mich stets durch Kontrollen überzeugen konnte. Während der Sterilisation wurden die andern drei Kölbchen im Eisschranke gehalten. Jedes der Kölbchen wurde dann mit zwei Normalösen einer 24stündigen Typhusagarkultur beschickt, tüchtig umgeschüttelt, damit sich die Bakterien in der Flüssigkeit gleichmäfsig verteilten und dann Kontrollröhrchen geimpft.

Der Kalkmilchzusatz wurde so verteilt, dafs von den sterilisierten Kölbchen das erste 0,5, das zweite 1,0 und das dritte 2,0 Gewichtsprozente Kalkmilch enthielt. Den nicht sterilisierten Kölbchen setzte ich 1,0, 2,0 und 3,0 Gewichtsprozente Kalchmilch zu. Unter häufigem Umschütteln wurden nach 5, 10, 15 und 30 Minuten, sowie nach 1, 3 und 24 Stunden von jedem Kölbchen eine Probe entnommen und zur Anreicherung in je ein Röhrchen Nährbouillon gebracht, die man für 48 Stunden im Brutschrank beliefs.

Ganz in der gleichen Weise wie mit Typhusbazillen wurden die Versuche mit El Tor-Vibrionen ausgeführt, nur mit dem

einen Unterschiede, dafs die entnommenen Proben statt in Bouillon in 1proz. Peptonwasser, welches nach der Vorschrift von Kolle und Hetsch bereitet war, angereichert wurden.

Um aus der Bouillon, in welcher eine reiche Flora anderer Bakterien gewachsen war, die Typhusbazillen zu isolieren, wurde ein kleines Tröpfchen des Untersuchungsmaterials mit dem Dalli in Verdünnungen auf drei Drygalskiplatten verrieben, die aufgegangenen Kolonien näher untersucht und nach 24stündigem Wachstum die Typhusbazillen vermittelst üblicher Methoden identifiziert.

Zur Isolierung der El Tor-Vibrionen wurde von den Proben ein kleiner Platinlöffel entnommen und Material in 50 ccm Peptonwasser gebracht. Nach 8stündiger Bebrütung wurden von der Oberfläche der Kultur Proben entnommen und auf Agarplatten in Verdünnungen übertragen. Auch hier geschah die Identifizierung nach bekannten Methoden.

Über die Resultate dieser Versuche geben die Tabellen IV bis IX Aufschlufs.

Tabelle IV stellt einen Versuch dar, bei welchem das frische $Ca(OH)_2$ gleich nach der Entnahme aus dem Kalksumpfe verwendet wurde. Das Material wurde in der oben angegebenen Weise getrocknet und aus dem trockenen Kalkhydrat eine 20proz. Kalkmilch hergestellt. 5 ccm derselben mit 10 ccm Normaloxalsäure versetzt und mit N. NaOH zurücktitriert, verbrauchten 1,1 ccm N. NaOH = 6,586% $Ca(OH)_2$.

Der nächste Versuch, Tabelle V, wurde erst drei Monate später ausgeführt, nachdem sich auf der Oberfläche des Kübels ein fester Überzug gebildet hatte. Das Calciumhydroxyd entnahm ich den fast ausgetrockneten und granulierten Oberflächenpartien und bereitete daraus, nachdem es vollends bei 100° getrocknet war, eine 20proz. Kalkmilch. 5 ccm in gewohnter Weise titriert, verbrauchten 2,1 ccm N. NaOH = 5,846 % $Ca(OH)_2$.

Tabelle VI. $Ca(OH)_2$ stammte aus den unteren Schichten des Kübels und wurde nach vorsichtiger Entfernung der ausgetrockneten Oberflächenpartien der Tiefe entnommen. 5 ccm

der aus dem getrockneten $Ca(OH)_2$ hergestellten 20proz. Kalkmilch verbrauchten bei der Titration 1,2 ccm N. NaOH = 6,512% $Ca(OH)_2$.

Tabelle VII. Proben aus den oberen Schichten des Kübels, welche ganz verwittert waren, sowie Proben aus den unteren Schichten, die sich unzersetzt vorfanden, wurden getrocknet, zu gleichen Teilen gemischt und aus dem so erhaltenen Calciumhydroxyd eine 20proz. Kalkmilch hergestellt. 5 ccm verbrauchten 2,5 ccm N. NaOH = 5,55% $Ca(OH)_2$.

Tabelle VIII. Zu diesem Versuche verschaffte ich mir gelöschten Kalk bei einem Neubau. Das $Ca(OH)_2$ war hier seit ungefähr acht Tagen in einer Kalkmulde untergebracht. Die Proben, die eine dickbreiige Konsistenz hatten, entnahm ich von der Oberfläche. Zur Gewinnung einer 20proz. Kalkmilch rieb ich einen Raumteil dieses dicken Kalkbreies mit $1\frac{1}{2}$ Raumteilen destillierten Wassers an, und von dieser Mischung verbrauchten 5 ccm beim Zurücktitrieren 0,8 ccm N. NaOH = 6,608% $Ca(OH)_2$.

Tabelle IX. Das $Ca(OH)_2$, welches total ausgetrocknet und granuliert war, entnahm ich den Überresten eines Fasses auf einem Werkplatze. 20 g desselben verrieb ich direkt mit 80 g destilliertem Wasser zur Kalkmilch, von welcher 5 ccm bei der Titration 2,3 ccm N. NaOH = 5,476% $Ca(OH)_2$ verbrauchten.

Fassen wir das Ergebnis dieser Untersuchungen zusammen, so kommen wir zu dem Schlusse, dafs sich Calciumhydroxyd, so wie es sich gewöhnlich in den Kalkgruben im Freien vorfindet, sehr lange zur Bereitung einer für die Desinfektion wirksamen Kalkmilch verwenden läfst. Dabei ist zu beachten, dafs die Oberflächenpartien stets zu entfernen und nur die unzersetzten unteren Schichten zu gebrauchen sind, wenn man günstige Desinfektionsresultate erzielen will. Ein Vermischen des $Ca(OH)_2$ ist, wie aus Tabelle VII ersichtlich, nicht zu empfehlen. Immerhin kommen, wie uns Tabelle V und IX zeigen, auch schon verwittertem $Ca(OH)_2$ noch desinfizierende Eigenschaften zu, da im Innern der verwitterten Brocken stets noch unzersetztes $Ca(OH)_2$ eingeschlossen ist.

Um ein Bild davon zu bekommen, in welchem Grade und in welchem Zeitraume die Umwandlung des $Ca(OH)_2$ in $CaCO_3$ vor sich geht, untersuchte ich während dreiviertel Jahren jeden Monat Proben der verwitterten Oberflächenschicht und gleichzeitig auch solche von den Tiefenpartien des im Freien aufgestellten Kübels. Die Versuche stellte ich in der Weise an, dafs ich 20 g des verwitterten trockenen $Ca(OH)_2$ mit 80 g destilliertem Wasser zur Kalkmilch anrieb, diese unter häufigem Umschütteln mehrere Stunden stehen liefs und dann filtrierte. Kalkmilch konnte nicht direckt zur Bestimmung des Gehaltes an gelöstem $Ca(OH)_2$ verwandt werden, weil, wie ich schon früher erwähnte, beim Abmessen stets ungleiche Mengen des suspendierten $Ca(OH)_2$ zur Titration gelangen.

Bei der im November zum erstenmal vorgenommenen Prüfung wurde das frische $Ca(OH)_2$ der Tiefe entnommen, bei Luftabschlufs leicht getrocknet und daraus in der angegebenen Weise das Kalkwasser bereitet. 10 ccm des letzteren verbrauchten 0,5 ccm Normaloxalsäure bis zur bleibenden Rötung: $0{,}5 \cdot 0{,}37 = 0{,}185\,\%$ $Ca(OH)_2$.

Im Verlaufe der folgenden Monate war eine Abnahme an wirksamem $Ca(OH)_2$, wie aus Tabelle X ersichtlich, zu konstatieren.

Diese Abnahme betrug pro Monat ungefähr 0,0185 %, sie blieb aus im Monat Februar und Juli, um beim Übergang von der kalten zur wärmeren Jahreszeit, vom April zum Mai aufs Doppelte anzusteigen (0,037 %). Der unterhalb der verwitterten Schicht befindliche gelöschte Kalk hatte auch am Schlusse meiner Untersuchungen im Juli immer noch den gleichen Gehalt an löslichem $Ca(OH)_2$. 10 ccm des aus ihm hergestellten Kalkwassers brauchten 0,5 ccm Normaloxalsäure = 0,185 % $Ca(OH)_2$.

Die unteren Partien waren also vollkommen unzersetzt geblieben, indem durch die Kohlensäure der Luft die Oberfläche des in dem Kübel befindlichen Kalkes in eine karbonatreiche feste Schicht umgewandelt wurde. Diese schliefst die Tiefenpartien vor weiterem Luftzutritt ab, wodurch eine fortschreitende

Umsetzung in Kalziumkarbonat verhindert wird. Es ist dies ein weiterer Beweis für das im vorigen Abschnitt Gesagte, dafs die unteren Partien von im Freien befindlichen $Ca(OH)_2$ lange Zeit zu einer wirksamen Desinfektion verwendet werden können.

Im zweiten Teil meiner Arbeit beschäftigte ich mich mit den desinfizierenden Faktoren der Kalkmilch.

Wie wir aus der Literatur ersehen haben, gehen die Ansichten über das wirksame Prinzip des Kalkes noch sehr auseinander. Während die einen Autoren die desinfizierende Kraft hauptsächlich der mechanischen Wirkung des Kalkes als Fällungsmittel zuschreiben, erblicken die anderen das abtötende Agens ausschliefslich in den stark alkalischen Eigenschaften des Kalkes, und wieder andere nehmen eine Mittelstellung ein, indem sie die Kalkwirkung als eine Kombination von Alkaleszenz- und mechanischer Wirkung auffassen.

Zunächst suchte ich nun die Frage der mechanischen Wirkung aufzuklären, wozu ich die folgenden Versuche anstellte.

In einem sterilen Zylinderglase wurde ein weicher kleiner Fäzesklumpen mit 500 ccm sterilisiertem Wasser aufgeschwemmt und mit 10 g einer 20proz. Kalkmilch gefällt. Es entstand sofort ein ziemlich voluminöser Niederschlag, der sich in verhältnismäfsig kurzer Zeit absetzte. Um eine weitere Einwirkung des noch vorhandenen ungelösten $Ca(OH)_2$ aufzuheben und dieses ganz aus dem Niederschlag herauszuschaffen, wurde nach einer Stunde die überstehende alkalisch reagierende Flüssigkeit abgehebert und das Sediment nochmals mit 500 ccm sterilisiertem Wasser aufgerührt. Nach abermaligem Sedimentieren und Abhebern, wobei das abfliefsende Wasser nur noch schwach alkalische Reaktion zeigte, wurden Proben des Bodensatzes, um die letzten Spuren von Alkali zu beseitigen, in zwei Röhrchen mit je 40 ccm sterilisiertem Wasser zentrifugiert, abpipettiert und diese Prozedur noch einmal wiederholt. Der restierende Bodensatz wurde dann in zwei Kölbchen mit je 50 ccm Nährbouillon gebracht. Sowohl bei diesem Versuche als auch bei einem zweiten in derselben Weise ausgeführten war nach 48 Stunden ein reichliches Wachstum von Koli und

anderen in den Fäzes vorhandenen Bakterien zu verzeichnen. Es hatte also durch die Fällung keine Abtötung der Bakterien stattgefunden.

Bei den weiteren Versuchen war es mir hauptsächlich darum zu tun, die Einwirkung des Alkalis so gut als möglich auszuschalten, was ich dadurch zu erreichen suchte, dafs ich das gelöste $Ca(OH)_2$ durch Einleiten von Kohlensäure möglichst rasch in $CaCO_3$ umwandelte. Dabei verfuhr ich in der Weise, dafs ich in einem sterilen grofsen Reagenszylinder 25 ccm Kalkwasser mit 25 ccm sterilisiertem destilliertem Wasser vermischte und diese Mischung mit zwei kleinen Platinlöffelchen Material einer Aufschwemmung einer 24stündigen Schrägagarkultur von Koli in 10 ccm sterilisiertem Wasser versetzte. Mit 0,1 ccm dieses Bakteriengemisches wurden sofort Kontrollplatten gegossen. Dann leitete ich in die Kalkwassermischung Kohlensäure ein, die ich aus $CaCO_3$ und verdünnter Salzsäure entwickelte. Nachdem sich der gebildete Niederschlag abgesetzt hatte, was in drei Stunden erfolgt war, verbrachte ich vom Bodensatze, sowie von der Mitte und der überstehenden Flüssigkeit je 0,1 ccm in verflüssigten Agar und legte damit Platten an, die nach 48stündigem Wachstum folgendes ergaben:

Kontrollplatte	Oberfläche	Mitte	Bodensatz
220 000 Kolon.	5120 Kolon.	17 560 Kolon.	24 180 Kolon.

In ganz gleicher Weise wurde der nächste Versuch ausgeführt, mit dem einzigen Unterschiede, dafs 25 ccm Kalkwasser statt mit destilliertem Wasser mit 25 ccm filtrierter und sterilisierter schwach alkalischer Jauche vermischt wurden, wobei keine Fällung entstand. Das Ergebnis war:

Kontrollplatte	Oberfläche	Mitte	Bodensatz
179 550 Kolon.	2356 Kolon.	14 260 Kolon.	29 910 Kolon.

Bei einem weiteren Versuche, bei dem der seitherige Modus der Ausführung eingehalten wurde, vermischte ich 45 ccm Kalkwasser mit 5 ccm sterilisierter und filtrierter Jauche, versetzte mit Koliaufschwemmung und leitete Kohlensäure ein.

Kontrollplatte	Oberfläche	Mitte	Bodensatz
150 000 Kolon.	58 Kolon.	73 Kolon.	186 Kolon.

Da bei diesem Versuche die Kohlensäurezufuhr infolge Überschäumens unterbrochen werden mufste, ging die Umsetzung des $Ca(OH)_2$ in $CaCO_3$ zu langsam vor sich, und das Alkali hatte deshalb Gelegenheit, längere Zeit auf die Bakterien einzuwirken, wodurch die starke Abtötung bedingt wurde.

Um eine rein mechanische Wirkung zu erzielen, und jeglichen Einflufs des Alkalis unmöglich zu machen, führte ich einen neuen Versuch in nachstehender Weise aus.

25 ccm filtrierte und sterilisierte Jauche, die schwach alkalisch reagierte, vermischte ich mit 25 ccm sterilisiertem destillierten Wasser in einem grofsen Reagenscylinder und neutralisierte mit verdünnter 0,5 proz. Essigsäure, wozu zwei Tropfen nötig waren. Dann leitete ich in das Gemisch Kohlensäure bis zur Sättigung ein und versetzte es mit zwei kleinen Platinlöffeln einer Aufschwemmung einer 24 stündigen Koliagarkultur in 10 ccm sterilisiertem Wasser. Nachdem ich mit 0,1 ccm sofort eine Kontrollplatte beschickt hatte, wurde dem Gemisch 50 ccm Kalkwasser zugegeben. Diese Quantität Kalkwasser reichte nicht aus, die vorhandene CO_2 zu binden, was daraus hervorging, dafs bei einem erneuten tropfenweisen Zusatze von Kalkwasser immer noch ein Niederschlag entstand und die Mischung nicht alkalisch reagierte. Die CO_2 war also im Überschufs vorhanden und eine Anwesenheit von Alkali ausgeschlossen. Nach drei Stunden hatte sich der reichlich entstandene Niederschlag abgesetzt, worauf ich je 0,1 ccm vom Bodensatze, sowie von der Mitte und Oberfläche der überstehenden Flüssigkeit in Agar brachte und Platten gofs. Eine weitere Probeentnahme erfolgte nach 24 Stunden. Nach 48 stündigem Wachstum ergab sich folgendes Resultat:

	Zeit der Entnahme	Oberfläche	Mitte	Niederschlag
Kontrolle 270 000 Kol. ungefähr	Nach 3 Stunden .	—	24 430 Kol.	38 060 Kol.
	» 24 » .	58 300 Kol.	58 300 »	58 300 »

Aus all diesen Versuchen geht hervor, dafs von einer mechanischen Wirkung des Kalkes im Sinne einer Abtötung der

Bakterien nicht die Rede sein kann. Die Bakterien werden von dem bei jeder Kalkdesinfektion sich bildenden Niederschlage in die Tiefe gerissen und im Bodensatz angereichert, nach Verlauf einer gewissen Zeit erholen sie sich aber wieder und verteilen sich gleichmäfsig in der Versuchsflüssigkeit. Dafs eine mechanische Wirkung ausgeschlossen ist, geht auch daraus hervor, dafs bei späteren Versuchen, bei denen ich ganz schwache Calciumhydroxydlösungen (vierfach verdünntes Kalkwasser) auf Kolibakterien einwirken liefs, diese schon abgetötet waren, bevor sich überhaupt die geringste Spur eines Niederschlages gebildet hatte. Ferner dürfte sich die von Citron angeführte Tatsache, dafs bei der Einwirkung von Kalk auf Bakterien dieser mit der Bakterienmembran Kalkeiweifsverbindungen eingehe und dadurch abtötend wirke, als sehr unwahrscheinlich erweisen, da derartige Verbindungen selbst im tierischen Organismus, in welchem sich doch die Reaktionen viel sicherer als im Reagensglase abspielen, kaum zustande kommen. So hat Hammersten[31]) erst kürzlich gezeigt, dafs sogar bei dem Fibrin, das besonders nahe Beziehungen zum Kalk haben sollte, dieser als mechanische Beimengung angesehen werden mufs. Das Eiweifs enthält die Kalksalze, aufserdem H_3PO_4 und andere als mechanische Beimengungen, von denen es allerdings seither noch nie hat befreit werden können. Im übrigen dürfte es, so lange es nicht gelungen ist, die Struktur des Eiweifsmoleküls aufzuklären, sehr schwer sein, den Nachweifs derartiger Kalkeiweifsverbindungen zu liefern.

Was nun die Alkalescenz des Kalkes betrifft, die, nachdem eine mechanische Einwirkung desselben ausgeschlossen ist, nur noch ausschliefslich als desinfizierendes Agens in Betracht kommen kann, so mufste zunächst die Frage ventiliert werden, ob das wirksame Prinzip einzig und allein der Alkalescenz zuzuschreiben ist, oder ob dabei noch andere Faktoren im Spiele sind.

Schon Behring[32]) hatte darauf hingewiesen, dafs der Alkalescenzgrad nicht allein ausschlaggebend sei für das Resultat einer erfolgreichen Desinfektion, sondern dafs es ganz davon abhänge, was für ein Alkali verwendet wird. Von Ammoniak

oder kohlensaurem Ammoniak sei beispielsweise um Choleravibrionen abzutöten ein bis sechsmal höherer Alkalescenzgrad erforderlich, als wie von anderen Alkalien.

Diese Angaben bestätigten und ergänzten seine Schüler, v. Lingelsheim[33]) und Boer[34]). Nach v. Lingelsheim mufsten von Baryumhydroxyd, Natriumhydroxyd und Calciumhydroxyd, auf Normalnatronlauge berechnet, verschieden grofse Quantitäten zu einem Serum zugesetzt werden, um in diesem die Vermehrung von Milzbrandbazillen zu verhindern. Bei Ammoniak bedurfte es hierzu eine siebenfach gröfsere Menge als wie bei Normalnatronlauge. Behring, v. Lingelsheim und Boer fanden für den Unterschied in der desinfizierenden Kraft der NaOH, des $Ca(OH)_2$ und $Ba(OH)_2$ einerseits und des NH_3 andererseits keine Erklärung.

Ein solcher Aufschlufs wurde erst durch die Arbeiten von Kroenig und Paul[35])[36]) gegeben. Auf Grund der Jonentheorie erklären diese beiden Forscher das verschiedene Verhalten der Alkalien aus dem Grade der elektrolytischen Dissociation. KOH und NaOH gehören zu den starken Basen, und wenn man den Grad der elektrolytischen Dissociation als Mafsstab der Stärke einer Base annimmt, so sind $Ca(OH)_2$ und $Ba(OH)_2$ ebenfalls zu den starken Basen zu rechnen, während NH_3 dagegen eine sehr viel schwächere Base ist.

Die von Kroenig und Paul an Milzbrandsporen und Staphylokokken angestellten Versuche führten zu dem Resultate, dafs die Basen im Verhältnis ihres Dissociationsgrades, d. h. entsprechend der Konzentration der in der Lösung enthaltenen Hydroxylionen ihre desinfektorische Wirkung entfalten.

Bei meinen Versuchen ging ich von der Voraussetzung aus, dafs, falls die Alkalescenz das allein wirksame Prinzip der Alkalien ist, dieselben bei einem ganz genau gleichen Alkalescenzgrad auch die gleiche desinfizierende Wirkung ausüben müssen. Um mir hierüber Klarheit zu verschaffen, machte ich vergleichende Desinfektionsversuche mit $Ca(OH)_2$-, KaOH-, NaOH-, $Ba(OH)_2$ und NH_3-Lösungen. Die $Ca(OH)_2$-Lösung bereitete ich zu diesem Zwecke aus reinstem Calcaria usta e marmore.

Als Testobjekt benutzte ich Bakterium Koli, das noch etwas widerstandsfähiger als Typhus- und Cholerabakterien ist.

Die Lösungen wurden vor jedem Versuche frisch eingestellt und sofort verwendet. Dabei ging ich von der Calciumhydroxydlösung aus, von welcher 10 ccm bei der Titration 0,6 ccm Normaloxalsäure bis zur bleibenden Rötung des Phenolphthaleins erforderten. Dementsprechend wurden die anderen Lösungen genau auf den gleichen Alkalescenzgrad eingestellt, so dafs alle bis zur Neutralisation 0,6 ccm Normaloxalsäure verbrauchten. Der Prozentgehalt an gelösten Alkalien ist jeweils in den Tabellen angegeben.

Je 100 ccm dieser Lösungen brachte ich in sterile Erlenmeyerkölbchen und versetzte sie mit einer Aufschwemmung einer 24stündigen Schrägagarkultur von Koli in 10 ccm sterilem destilliertem Wasser. Von diesen Mischungen, die durch häufiges Umschütteln in Bewegung gehalten wurden, entnahm ich nach 5, 10, 15 und 30 Minuten bzw. nach 1, 3 und 24 Stunden einen kleinen Platinlöffel voll, um damit Agarplatten zu giefsen, die 48 Stunden bei 37° verblieben.

Das Resultat dieses Versuches ergibt sich aus Tabelle XI. Man ersieht daraus, dafs $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, KOH und NaOH sämtliche Kolibakterien abtöteten, während das NH_3 absolut keinen Einflufs ausübte.

In Tabelle XII sind die Versuche zur Ermittlung der Konzentration enthalten, bei welcher die NH_3-Lösung abtötend auf Kolibakterien einwirkt. Ich fand, dafs hierzu ein zehnmal stärkerer Alkalescenzgrad erforderlich ist als bei den genannten anderen Alkalien.

Tabelle XIII zeigt die Grenzwerte der verschiedenen Alkalien, welche ich nach vierfacher Verdünnung der ursprünglichen Lösungen von $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, KOH und NaOH mit sterilisiertem, destilliertem Wasser erhielt. Von jeder dieser Lösungen verbrauchten 10 ccm zur Neutralisation 0,15 ccm Normaloxalsäure. Im übrigen war die Anordnung sowohl bei diesem Versuche wie bei dem folgenden auf Tabelle XIV verzeichneten Kontrollversuche die gleiche, wie sie in Tabelle XI angegeben ist.

Ein weiterer Versuch wurde unter Einhaltung derselben Bedingungen, wie sie von Krönig und Paul (37) festgelegt wurden, ausgeführt, um den Desinfektionswert verschiedener Lösungen von Alkalien zu vergleichen. Nur habe ich das Verfahren für meine Zwecke etwas vereinfacht.

Als Testobjekt dienten dabei ebenfalls Kolibakterien, welche an annähernd gleichgrofse, ungeschliffene Granaten, die in vorgeschriebener Weise gereinigt und getrocknet waren, angetrocknet wurden.

15 Röhrchen 24 Stunden alter Kolischrägagarkulturen wurden mit 30 ccm sterilem, destilliertem Wasser aufgeschwemmt und durch ein steriles Papierfilter in ein sterilisiertes Erlenmeyerkölbchen filtriert. Vor und nach der Filtration angelegte Agarplatten zeigten, dafs der Bakteriengehalt der Aufschwemmung durch das Filtrieren nicht merklich abgenommen hatte. Die Granaten wurden dann mit der filtrierten Bakteriensuspension geschüttelt. Die überschüssige Flüssigkeit liefs ich gut ablaufen, brachte dann die Granaten in eine sterile Petrischale, und liefs sie im Vakuum über Schwefelsäure 2 Stunden trocknen.

Die Lösungen von $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, KOH und NaOH, welche alle wieder so eingestellt waren, dafs je 10 ccm 0,15 ccm Normaloxalsäure zur Neutralisation verbrauchten, brachte ich in sterile Doppelschälchen und beschickte jedes derselben mit sieben Granaten. Nach Ablauf von 5, 10, 15 und 30 Minuten, bzw. nach 1, 3 und 24 Stunden wurde je eine Granate dem Desinfektionsmittel mit ausgeglühter Pinzette entnommen, mit destilliertem Wasser abgespült und dann in verdünnte, einer $^1/_{10}$-Normalsäure entsprechende, also 0,06 proz. Essigsäure zur Unschädlichmachung des Desinfiziens übertragen. In diesem Reagens verblieben die Granaten 5 Minuten und wurden hernach durch Abspülen mit destilliertem sterilisiertem Wasser von der anhaftenden Essigsäure befreit. Jede der Granaten gelangte nach dieser Prozedur in ein 1 ccm steriles Wasser enthaltendes Reagensglas, aus welchem sie nach tüchtigem Schütteln, um die anhaftenden Bakterien abzusprengen, zwecks Einleitung des Plattenverfahrens

in 10 ccm verflüssigten Agar übertragen wurde. Nach 48stündigem Wachstum wurden die Kolonien gezählt.

Die Resultate dieses Versuches sind in Tabelle XV enthalten und bestätigen die Ergebnisse des vorhergehenden Versuches, welcher mit Bakterienaufschwemmung angestellt wurde. Die beim $Ba(OH)_2$ nach 10 Minuten eingetretene Vermehrung der Kolonien war auf Mischinfektion zurückzuführen. Die Platte war frei von Bacterium coli, dagegen wuchsen grofse, weifsgraue, saftigglänzende Kolonien, bestehend aus beweglichen, Gram positiven Stäbchen, welche die Gelatine trichterförmig verflüssigten; aller Wahrscheinlichkeit nach handelte es sich dabei um Proteus vulgaris.

Auffallend war auch die in Tabelle XIII und XIV zutage tretende Differenz in der desinfizierenden Wirkung von KOH und NaOH. Ich erklärte mir diese Erscheinung dadurch, dafs ich bei den Versuchen der Tabelle XIII die Lösungen von KOH und NaOH sterilisiert hatte, weil sie bei der schwachen Konzentration Schimmelpilze enthielten und dieselben mir bei wiederholten Vorproben Störungen verursachten. Durch die Sterilisation wurde eine Veränderung des Dissociationszustandes der Lösungen und eine gewisse Zersetzung des KOH und NaOH herbeigeführt, was sich schon äufserlich dadurch dokumentierte, dafs in den sterilisierten Lösungen glänzende Flimmerchen zu bemerken waren. Um diese Anahme experimentell zu beweisen, machte ich noch einen Versuch mit sterilisierten und nicht sterilisierten Lösungen von KOH und NaOH. Die Ausführung desselben geschah in der gleichen Weise, wie beim vorhergehenden Versuche. Als Testobjekt dienten ebenfalls an Granaten angetrocknete Kolibakterien.

Das Ergebnis dieses Versuches, das in Tabelle XVI niedergelegt ist, bestätigt aufs deutlichste, dafs einzig und allein durch das Sterilisieren die Desinfektionskraft der KOH und NaOH-Lösungen vermindert wurde; anderseits ergab sich dabei eine vollkommene Übereinstimmung mit den in Tabelle XIII und XIV angegebenen Werten.

Resultate:

Was nun die Resultate meiner Versuche anbetrifft, so lassen sie sich dahin zusammenfassen, dafs es nicht die Alkalinität des Kalkes und der anderen Alkalien als solche ist, welche die desinfizierende Wirkung verursacht, das geht schon daraus hervor, dafs trotz eines ganz genau gleichen Alkalescenzgrades bei den einzelnen Alkalien die Desinfektionskraft eine verschiedene ist. Vielmehr sind es die in Lösung befindlichen Hydroxyljonen, in welchen das wirksame Prinzip des Kalkes sowie der anderen Basen zu suchen ist. Ein Beweis dafür ist, dafs die Hydroxyde der einwertigen Metalle des Ka und Na, die nur eine vertretbare Hydroxylgruppe haben, einen geringeren Desinfektionswert besitzen, als die Hydroxyde der zweiwertigen Metalle, des Ca und Ba, bei welchen zwei vertretbare Hydroxylgruppen vorhanden sind und die infolgedessen auch eine gröfsere Anzahl von Hydroxyljonen in den Lösungen besitzen.

Berücksichtigen wir noch den in der Chemie feststehenden Satz, dafs die Basicität der Alkalien, die doch im allgemeinen an die Hydroxylgruppe gebunden ist, mit zunehmendem Molekulargewicht steigt, so finden wir auch hierin eine Erklärung der verschiedenen Desinfektionskraft der einzelnen Alkalien und eine Bestätigung meiner Versuche.

NH_3, das überhaupt keine Hydroxylgruppe besitzt, mit dem Molekulargewicht 17, desinfiziert am schlechtesten, $NaOH$, Molekulargewicht 40, und KOH, Molekulargewicht 56, stehen in der Mitte und wirken annähernd gleich, dann kommt $Ca(OH)_2$, Molekulargewicht 74, und am besten ist der Erfolg mit $Ba(OH)_2$, das das höchste Molekulargewicht von 171 hat.

Während ich mit der Lösung der mir gestellten Aufgabe beschäftigt war, erschien eine Arbeit von M. Kaiser[38]), in welcher darauf hingewiesen wird, dafs die bisherigen Desinfektionsvorschriften von Fäkalien, besonders im Stechbecken, ungenügend seien, da diese Desinfektionen ausschliefslich diarrhöische und dünnbreiige Stühle berücksichtigen, während nach Ansicht mancher Kliniker bei Typhus sehr häufig feste Stühle vorkommen. Um eine gründliche Desinfektion dieser kompakten Fäces herbeizuführen,

komme es in erster Linie darauf an, ein Mittel zu verwenden, welches das Medium, in das die Bakterien eingeschlossen sind, möglichst rasch zur Lösung bringe. Dabei spiele die Konzentration der Desinfektionslösung und ihre Einwirkungsdauer für die Abtötung der in den Fäces enthaltenen pathogenen Keime eigentlich nur eine sekundäre Rolle; wonach man sich bei der Wahl des Desinfektionsmittels zu richten habe, das sei der Zustand der Fäces, ihre Konsistenz, doch dürfe dabei der Prozentgehalt an Desinfiziens nicht unter die im Laboratorium an Reinkulturen ausprobierte Grenze heruntergehen.

Die ersten Versuche führte Kaiser aufser mit 5proz. Kresolseifenlösung noch mit 20proz. Kalkmilch aus, die er nach Pfuhls Vorschrift aus frisch gebranntem Kalk herstellte. Beide Desinfizientien liefs er auf feste Fäces einwirken. Dabei zeigte es sich, dafs diesen beiden Mitteln der Nachteil anhaftet, nur sehr langsam lösend auf Fäkalien einzuwirken und infolgedessen auch sehr langsam zu desinfizieren. Einen besseren Erfolg versprach sich Kaiser mit Rücksicht auf die chemische Konstitution des Kotes, namentlich bei dessen Gehalt an Fetten und Seifen, von stark alkalischen Laugen. Versuche, bei denen er 10 und 15proz. Lösungen von gewöhnlichem Ätznatron (Laugenstein) auf feste Fäces einwirken liefs, bestätigten seine Voraussetzung. Die Tiefenwirkung des Atznatrons war in derselben Zeit eine beträchtlich gröfsere als bei Verwendung einer 5proz. Kresolseifenlösung oder einer 20proz. Kalkmilch.

In Anbetracht dieser von Kaiser festgestellten Tatsachen war es für mich von Interesse, zu konstatieren, wie sich eine Kalkmilch, die anstatt aus frisch gebranntem Kalk aus dem in Kübeln im Freien aufgestellten Calciumhydroxyd hergestellt war, in bezug auf ihre Tiefenwirkung gegenüber festen Fäces verhält, bzw. in welcher Zeit die in den Fäces enthaltenen Kolibakterien abgetötet werden.

Zur Bereitung der Kalkmilch wurde das Calciumhydroxyd den unteren Schichten des Kübels entnommen und ein Raumteil desselben mit $1\frac{1}{2}$ Raumteilen Wasser zu einer gleichmäfsigen Mischung angerieben.

Als Testobjekt wählte ich, wie bereits gesagt, das in jedem Kote regelmäfsig vorkommende Bacterium Coli und zwar aus dem Grunde, weil es mir in verschiedenen Versuchen mifslungen war, feste frische Fäces mit Typhus- und Cholerabazillen so zu imprägnieren, dafs diese Bakterien gleichmäfsig in allen und zumal den mittleren Schichten verteilt gewesen wären. Aufserdem sind Cholera- und Typhusbakterien weniger resistent als Kolibazillen und es lassen sich deshalb die mit letzteren erzielten Resultate ohne weiteres auf die beiden erstgenannten Bakterienarten anwenden.

Bei der Ausführung der Versuche hielt ich mich im allgemeinen an die von Kaiser angegebene Methode.

Ein grofses Becherglas wurde mit 700 ccm der jedesmal frisch hergestellten Kalkmilch über die Hälfte angefüllt und die zu desinfizierenden Fäkalmassen, nachdem sie zuerst auf Anwesenheit von Koli untersucht waren, darin in einem Drahtkörbchen bis auf den Boden versenkt. Zur Zeit der Probeentnahme, die tagsüber alle zwei Stunden erfolgte, wurde das Körbchen herausgehoben, in ein anderes Becherglas gebracht und die Fäces so lange mit sterilisiertem Leitungswasser abgespült, bis die Desinfektionsflüssigkeit und mit ihr die bereits aufgeweichten Kotpartien weggeschwemmt waren. Darauf erfolgte die Probeentnahme mittels Platinnadel an verschiedenen Stellen der Oberfläche und aus der Tiefe des Kotes, desgleichen wurden Kontrollplatten aus den abgeschwemmten Partien angelegt. Die Proben wurden sofort in verflüssigte Gelatine gebracht, gründlich verteilt und zu Platten verarbeitet. Die durch die Entnahme des Materials in den Kotballen entstandenen Löcher verschmierte man sorgfältig, um dann das Körbchen wieder in die Desinfektionsflüssigkeit zurückzubringen.

Die gegossenen Platten wurden nach fünftägigem Verbleiben im Brutschranke bei 22° auf das Vorhandensein von Koli-, von verflüssigenden und nicht verflüssigenden Bakterien kontrolliert.

Bei dem in Tabelle XVII zusammengefafsten Versuche liefs ich die Kalkmilch auf einen kompakten zylindrischen Fäzes-

kegel, welcher ungefähr 10 cm lang, 3 cm dick und 42 g schwer und mit etlichen Schlacken versehen war, einwirken.

Die Kalkmilch hatte einen Gehalt von 6,364% $Ca(OH)_2$; 5 ccm mit 10 ccm Normaloxalsäure versetzt und mit Normalnatronlauge zurücktitriert, verbrauchten 1,4 ccm Normalnatronlauge.

Beim jedesmaligem Herausnehmen des Körbchens aus der Kalkbrühe war der Fäceskegel mit einer Schicht von ungelöstem $Ca(OH)_2$ bedeckt. Die im Becherglase befindliche Flüssigkeit war gelb gefärbt und roch schwach nach Ammoniak. Nach achtstündiger Einwirkung zeigte sich der Kot, namentlich im Bereiche der Schlacken, wo für das Eindringen der Desinfektionsflüssigkeit günstige Verhältnisse geboten waren, stark arrodiert, und nach 26 Stunden war er zu einem dicken Brei verflüssigt, in dem sich noch die Schlacken vorfanden. Aus verschiedenen Stellen entnommene Proben erwiesen sich frei von Kolibazillen. In Kontrollplatten, die aus den abgeschwemmten Anteilen gemacht waren, fanden sich keine Kolibakterien, dagegen wuchsen wenige verflüssigende Kolonien.

Die Art der Ausführung dieses Versuches schien mir den Nachteil zu haben, dafs dabei die natürlichen Verhältnisse zu wenig berücksichtigt wurden, denn einesteils sollen doch nach den Angaben der Desinfektionsvorschriften die Fäces mit dem Desinfiziens tüchtig umgerührt werden und andernteils wurde beim Versuch der Kalkmilch durch die Fäces Wasser entzogen, was zur Folge hat, dafs die Löslichkeit des suspendierten Calciumhydroxydes erschwert und der Gehalt an wirksamem gelöstem $Ca(OH)_2$ verringert wird.

Diese Übelstände hoffte ich in dem nun folgenden Versuche, dessen Resultate in Tabelle XVIII wiedergegeben sind, dadurch zu vermeiden, dafs ich das Körbchen mit dem Kote ungefähr alle halbe Stunden mehrmals vorsichtig auf- und abbewegte, wodurch die Kalkmilch wieder gleichmäfsig gemischt und die auf den Fäces liegende Schicht von $Ca(OH)_2$ erneuert wurde. Nach jedesmaligem zweistündigen Abimpfen versetzte ich die Kalkmilch mit 10 ccm Urin, um das derselben entzogene Wasser zu ersetzen.

Als Versuchsobjekt diente ein ziemlich harter Fäcescylinder, 12 cm lang, 3,5 cm dick und 98 g schwer von schwach alkalischer Reaktion, welcher zahlreiche grobe Beimengungen enthielt.

Der Gehalt der Kalkmilch wurde nach dem seitherigen Verfahren auf 6,068% $Ca(OH)_2$ bestimmt.

Nach achtstündigem Einwirken des Desinfiziens war der Kotballen oberflächlich schon ziemlich angegriffen, nach 24 Stunden hatte er sich abgeplattet zu Boden gesetzt und nach 30 Stunden befand sich in dem Körbchen ein mit groben Schlacken vermischter dicker Brei, in welchem Koli-Bakterien nicht mehr nachzuweisen waren.

Das Resultat gestaltete sich also in diesem Falle insofern günstiger, als nur vier Stunden mehr erforderlich waren, um die Kolibazillen in der doppelten Quantität Fäces abzutöten, wobei noch zu erwähnen ist, dafs der verarbeitete Fäcescylinder von härterer Konsistenz war, als bei dem vorhergehenden Versuche.

Ein Vergleich mit den von Kaiser erhaltenen Resultaten bei Verwendung von Kalkmilch, die aus frischgebranntem Kalk hergestellt war, liefs sich insofern nicht aufstellen, als der genannte Autor die Desinfektionsflüssigkeit nicht bis zur völligen Auflösung der Fäces und Abtötung der Kolibakterien einwirken liefs, sondern seine Versuche schon vorher abbrach.

Im Anschlufs an diese Versuche mit 20proz. Kalkmilch machte ich sodann noch je einen Versuch mit 10proz. und 15proz. Ätznatronlauge. Als Ausgangsmaterial zur Herstellung der Desinfektionsflüssigkeiten verwendete ich analog wie Kaiser das ganz gewöhnliche Ätznatron, das unter dem Namen »Laugenstein« in den Handel kommt. Zur Bereitung der Laugen wurden 100 g für die 10% bzw. 150 g für die 15% in gewöhnlichem Wasser unter Erwärmen in einer Porzellanschale zum Liter gelöst und die Lösungen nach dem Absitzenlassen klar abgegossen. Da der Laugenstein, entsprechend seiner Herstellungsweise, stets noch Ätzkali enthält, so war der Alkalescenzgehalt der Lösungen naturgemäfs ein höherer als 10% und 15%.

10 ccm der Ätznatronlösung verbrauchten 30,4 ccm Normaloxalsäure zur Neutralisation, und 10 ccm der 15 proz. Ätznatronlösung erforderten hiezu 48,4 ccm Normaloxalsäure, was einem Gehalt von 12,16% resp. in letzterem Falle einem solchen von 19,36% an Atzalkalien entspricht.

In 700 ccm der 10 proz. Natronlauge brachte ich einen festen geformten Kot ohne gröbere Beimengungen von 9 cm Länge, 3 cm Durchmesser, 40 g schwer, der schwach alkalisch reagierte. Die Lösung nahm bald eine braune Farbe an und roch deutlich ammoniakalisch. Die vor der Probeentnahme mit sterilisiertem Wasser abgeschwemmten Schichten waren tiefbraun gefärbt und zäh-schleimig, während die aus der Tiefe stammenden Partien noch ihre ursprüngliche Farbe beibehalten hatten.

Nach Verlauf von sechs Stunden war der Fäceskegel zu Boden gesunken und hatte sich am Boden des Drahtkörbchens festgeklebt. Nach 24 Stunden war er in einen zähen Brei zusammengeflossen, in welchem, wie aus Tabelle XIX ersichtlich, sämtliche Koli-Bakterien abgetötet waren.

In ähnlicher Weise verlief der auf Tabelle XX verzeichnete Versuch mit 15 proz. Natronlauge, die ich auf einen grofsen Fäceskegel von fester Konsistenz, 14 cm lang, 4,5 cm dick und 135 g schwer, einwirken liefs.

Auch hier hatte sich bereits nach sechs Stunden der Kotballen abgeplattet, zu Boden gesetzt, und nach 24 Stunden befand sich in dem Drahtkörbchen eine völlig aufgeweichte, schwarzbraune Masse, aus welcher sich keine Kolibakterien mehr züchten liefsen.

Die 15 proz. Natronlauge war also imstande, in derselben Zeit, wie die 10 proz. Lauge einen mehr als dreimal gröfseren Kotzylinder zur Lösung zu bringen.

Betrachtet man die Resultate dieser Versuche näher, so läfst sich die gröfsere Tiefenwirkung der 10 proz. und 15 proz. Lauge gegenüber der 20 proz. Kalkmilch schon daran erkennen, dafs nach dem Abspülen der aufgeweichten Schichten mit Wasser die den Oberflächenpartien des Kotes entnommenen Proben nur noch wenige Kolibakterien enthielten, das Desinfiziens also noch unter die gequollenen Schichten eingedrungen war; bei der 20 proz. Kalk-

milch dagegen erwiesen sich die Oberflächenproben immer noch stark kolihaltig, ein Beweis dafür, dafs das Auflösungsvermögen derselben ein geringeres ist.

Bei den stark ätzenden und auf organische Substanzen zerstörend einwirkenden Eigenschaften solch konzentrierter Laugen war eine Überlegenheit derselben gegenüber der Kalkmilch vorauszusehen; trotzdem ist die Einwirkung aber nicht so bedeutend wie man eigentlich hätte erwarten sollen, denn der Zeitunterschied, in welchem in beiden Fällen eine vollständige Abtötung der Kolibakterien eingetreten war, ist kein so grofser, dafs dieser Umstand, zumal bei so lange dauernden Desinfektionen, wesentlich zu ungunsten der Kalkmilch in Betracht kommen könnte.

Wenn man aufserdem noch berücksichtigt, dafs das Manipulieren mit derartig scharfen Laugen nicht so ganz ungefährlich ist, indem durch Verspritzen, das sich ja nicht immer vermeiden läfst, schwere Ätzwunden entstehen können, dafs sie ferner schädigend auf Gebrauchsgegenstände einwirken, so mufs entschieden der Kalkmilch als einem unschädlichen und billigeren Desinfektionsmittel der Vorzug vor der Ätznatronlauge gegeben werden.

Als Schlufsfolgerungen aus meiner Arbeit ergeben sich folgende Sätze:

1. Der gelöschte Kalk $Ca(OH)_2$ besitzt aufserordentlich energisch desinfizierende Eigenschaften und bewirkt eine Abtötung der vegetativen Formen der Bakterien auch in geringeren Konzentrationen.
2. Die desinfektorische Wirkung des Kalkes ist weder eine rein mechanische noch beruht sie auf dem Alkaligehalt als solchem: es sind vielmehr die in Lösung befindlichen Hydroxyljonen, die hauptsächlich als wirksames Agens in Betracht kommen.
3. In bezug auf die Art der Wirksamkeit des Kalkes gegenüber Bakterien erweist sich auf Grund theoretischer Erwägungen die Annahme der Entstehung von Kalkeiweifsverbindungen als nicht wahrscheinlich.
4. Als praktisch wichtiges Ergebnis ist die Tatsache anzusehen, dafs der Kalk unter dem Einflusse der Atmo-

sphärilien auch bei längerer Dauer dieser Einwirkung in seiner Zusammensetzung hauptsächlich nur in den oberflächlichen Schichten beeinflufst wird, während die tiefer liegenden Partien von der Einwirkung unberührt bleiben und damit ihre desinfektorische Kraft vollkommen bewahren.

Es kann somit der Kalk aus Kalkgruben lange Zeit zu Desinfektionszwecken benützt werden, wenn jedesmal bei der Entnahme für die Beseitigung der oberflächlichen Partien gesorgt wird.

5. Die Kalkmilch hat sich bei der Einwirkung auf feste Fäces als ein brauchbares Desinfektionsmittel erwiesen und wirkt zugleich lösend auf die Kotballen.

Tabelle I.

Zusatz von 20% Kalkmilch in Gewichtsprozenten Ca-Milch = 12,58% Ca(OH)$_2$	Typhus-Bazillen, Probeentnahme nach Minuten				Typhus-Bazillen, Stunden			Cholera-Bazillen, Probeentnahme nach Minuten				Cholera-Bazillen, Stunden		
	5	10	15	30	1	3	24	5	10	15	30	1	3	24
0,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1%	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—
2%	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
3%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle II.

Sterilisiertes Kanalwasser (Berner Kanalisation).

Typhus: Zusatz von pulverform. Ca(OH)$_2$ in Gew.-pro-Millen	Probeentnahme nach Stunden 1	3	24	El Tor: Zusatz von pulverform. Ca(OH)$_2$ in Gew.-pro-Millen	Probeentnahme nach Stunden 1	3	24
0,5‰	+	+	—	0,5‰	+	—	—
1‰	—	—	—	1‰	—	—	
1,5‰	—	—	—	1,5‰	—	—	—

Nichtsterilisiertes Kanalwasser (Berner Kanalisation).

Typhus	1	3	24	El Tor	1	3	24
1‰	+	+	+	1‰	+	+	—
1,5‰	+	+	—	1,5‰	+	+	—
2‰	+	+	—	2‰	+	—	—

Tabelle III. Jauche (sterilisiert).

Typhus: Zusatz von pulverförm. $Ca(OH)_2$ in Gew.-pro-Millen	Probeentnahme nach Stunden: 1	3	24	El Tor: Zusatz von pulverförm. $Ca(OH)_2$ in Gew.-pro-Millen	Pobeentnahme nach Stunden: 1	3	24
0,5 ‰	+	+	−	0,5 ‰	+	+	−
1 ‰	+	+	−	1 ‰	−	−	−
1,5 ‰	+	+	−	1,5 ‰	−	−	−

Jauche (nicht sterilisiert).

1 ‰	+	+	+	1 ‰	+	+	+
1,5 ‰	+	+	−	1,5 ‰	+	+	−
2 ‰	+	+	−	2 ‰	+	+	−

Tabelle IV. Jauche (sterilisiert).

Zusatz von 20% Kalkmilch in Gewichtsprozenten. Kalkmilch = 6,586 % $Ca(OH)_2$	Typhus							El Tor						
	Probeentnahme nach													
	Minuten				Stunden			Minuten				Stunden		
	5	10	15	30	1	3	24	5	10	15	30	1	3	24
0,5 %	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−
1 %	+	+	+	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−
2 %	+	+	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−

Jauche (nicht sterilisiert).

1 %	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	−
2 %	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−	−
3 %	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Tabelle V. Jauche (sterilisiert).

Zusatz von 20% Kalkmilch in Gewichtsprozenten. Kalkmilch = 5,846% $Ca(OH)_2$	Typhus							El Tor						
	Probeentnahme nach													
	Minuten				Stunden			Minuten				Stunden		
	5	10	15	30	1	3	24	5	10	15	30	1	3	24
0,5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 %	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−
2 %	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−

Jauche (nicht sterilisiert).

1 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
3 %	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−

Tabelle VI.

Jauche (sterilisiert).

Zusatz von 20% Kalkmilch in Gewichtsprozenten. Kalkmilch = 6,512% $Ca(OH)_2$	Typhus							El Tor						
	Probeentnahme nach													
	Minuten				Stunden			Minuten				Stunden		
	5	10	15	30	1	3	24	5	10	15	30	1	3	24
0,5 %	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	—
1 %	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—
2 %	+	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—

Jauche (nicht sterilisiert).

1 %	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—
2 %	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—
3 %	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle VII.

Jauche (sterilisiert).

Zusatz von 20% Kalkmilch in Gewichtsprozenten. Kalkmilch = 5,55% $Ca(OH)_2$	Typhus							El Tor						
	Probeentnahme nach													
	Minuten				Stunden			Minuten				Stunden		
	5	10	15	30	1	3	24	5	10	15	30	1	3	24
0,5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1 %	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	—
2 %	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	—	—

Jauche (nicht sterilisiert).

1 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
3 %	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	—	—

Tabelle VIII.

Jauche (sterilisiert).

Zusatz von 20% Kalkmilch in Gewichtsprozenten. Kalkmilch = 6,608% $Ca(OH)_2$	Typhus							El Tor						
	Probeentnahme nach													
	Minuten				Stunden			Minuten				Stunden		
	5	10	15	30	1	3	24	5	10	15	30	1	3	24
0,5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1 %	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—
2 %	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Jauche (nicht sterilisiert).

Zusatz von 20% Kalkmilch in Gewichtsprozenten Kalkmilch = 6,608% $Ca(OH)_2$	Typhus							El Tor						
	Probeentnahme nach													
	Minuten				Stunden			Minuten				Stunden		
	5	10	15	30	1	3	24	5	10	15	30	1	3	24
1%	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−
2%	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	−	−
3%	+	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−

Tabelle IX.

Jauche (sterilisiert).

Zusatz von 20% Kalkmilch in Gewichtsprozenten. Kalkmilch = 5,476% $Ca(OH)_2$	Typhus							El Tor						
	Probeentnahme nach													
	Minuten				Stunden			Minuten				Stunden		
	5	10	15	30	1	3	24	5	10	15	30	1	3	24
0,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1%	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−
2%	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	−

Jauche (nicht sterilisiert).



1%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
3%	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	−	−

Tabelle X.

Kalkproben aus den Oberflächenschichten des Kübels.

Zeit der Untersuchung	Zur Titration verwendete Menge Kalkwasser	Anzahl der verbrauchten ccm Norm. Oxalsäure	Prozentgehalt an $Ca(OH)_2$
November 1906	10 ccm Kalkwasser verbr.	0,5	0,185
Dezember 1906	10 ccm » »	0,45	0,1665
Januar 1907	10 ccm » »	0,4	0,148
Februar 1907	10 ccm » »	0,4	0,148
März 1907	10 ccm » »	0,35	0,1295
April 1907	10 ccm » »	0,3	0,111
Mai 1907	10 ccm » »	0,2	0,074
Juni 1907	10 ccm » »	0,15	0,0555
Juli 1907	10 ccm » »	0,15	0,0555

Kalkproben aus der Tiefe des Kübels.

Zeit der Untersuchung	Zur Titration verwendete Menge Kalkwasser	Anzahl der verbrauchten ccm Norm. Oxalsäure	Prozentgehalt an $Ca(OH)_2$
November 1906	10 ccm Kalkwasser verbr.	0,5	0,185
Dezember 1906	10 ccm » »	0,5	0,185
Januar 1907	10 ccm » »	0,5	0,185
Februar 1907	10 ccm » »	0,5	0,185
März 1907	10 ccm » »	0,5	0,185
April 1907	10 ccm » »	0,5	0,185
Mai 1907	10 ccm » »	0,5	0,185
Juni 1907	10 ccm » »	0,5	0,185
Juli 1907	10 ccm » »	0,5	0,185

Tabelle XI.

Dauer der Einwirkung	$Ca(OH)_2$ 0,222 %	$Ba(OH)_2$ 0,946 %	KOH 0,336 %	NaOH 0,24 %	NH_3 0,102 %
5 Min.	—	—	—	—	+
10 »	—	—	—	—	+
15 »	—	—	—	—	+
30 »	—	—	—	—	+
1 Std.	—	—	—	—	+
3 »	—	—	—	—	+
24 »	—	—	—	—	+

Tabelle XII.

Dauer der Einwirkung	NH_3 3facher Alkalescenzgrad = 0,306 %	NH_3 5facher Alkalescenzgrad = 0,51 %	NH_3 7facher Alkalescenzgrad = 0,714 %	NH_3 10facher Alkalescenzgrad = 1,02 %
5 Min.	+	+	+	+
10 »	+	+	+	+
15 »	+	+	+	+
30 »	-	+	+	+
1 Std.	+	+	+	—
3 »	+	+	+	—
24 »	+	+	+	—

Tabelle XIII und XIV.

Dauer der Einwirkung	$Ca(OH)_2$ 0,055 %	$Ba(OH)_2$ 0,2365 %	KOH 0,084 %	NaOH 0,06 %
5 Min.	+	+	+	+
10 »	+	—	+	+
15 »	—	—	+	+
30 »	—	—	+	+
1 Std.	—	—	+	+
3 »	—	—	+	+
24 »	—	—	—	—
5 Min.	+	+	+	+
10 »	+	—	+	+
15 »	—	—	+	+
30 »	—	—	+	+
1 Std.	—	—	—	—
3 »	—	—	—	—
24 »	—	—	—	—

Tabelle XV.

Dauer der Einwirkung	$Ca(OH)_2$ 0,055 %	$Ba(OH)_2$ 0,2365 %	KOH 0,084 %	NaOH 0,06 %	Kontrollplatte 217000—225000 Kolonien
	Anzahl Kolonien	Anzahl Kolonien	Anzahl Kolonien	Anzahl Kolonien	
Min.	2420	49	50220	47430	
0 »	70	160*	58590 etwas größere Granate	39060	
15 »	—	—	19080	27680	
30 »	—	—	235	340	
1 Std.	—	—	—	—	
3 »	—	—	—	—	
24 »	—	—	—	—	

*) Siehe Text.

Tabelle XVI.

Dauer der Einwirkung	Nichtsterilisierte Lösungen von		Sterilisierte Lösungen von		Kontroll-platte 200 000 Kolonien ungefähr
	Na OH 0,06 %	K OH 0,084 %	Na OH 0,06 %	K OH 0,084 %	
	Anzahl Kolonien	Anzahl Kolonien	Anzahl Kolonien	Anzahl Kolonien	
5 Min.	39 060	17 750	41 850	16 740	
10 »	13 950	13 950	18 780	27 900	
15 »	8060	1116	10 850	5270	
30 »	18	146	139	225	
1 Std.	—	—	10	38	
3 »	—	—	30	2	
24 »	—	—	—	—	

Tabelle XVII.

Zeit der Probe-entnahme	Nr. der Proben	Proben aus den oberflächlichen Partien	Nr. der Proben	Proben aus der Tiefe
Nach 2 Stunden	I	Wenige Koli, viele verflüssigende Kolonien	I	Zahlreiche Koli und verflüssigende, wenige nicht verflüssigende Kolonien
	II	Zahlreiche Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	II	Wenige Koli, viele verflüssigende Kolonien
	III	Wenige Koli, viele nicht verflüssigende Kolonien	III	Wenige Koli und verflüssigende, zahlreiche nicht verflüssigende Kolonien
	IV	Wenige Koli, viele verflüssigende Kolonien		
Nach 4 Stunden	I	Wenige Koli, viele verflüssigende Kolonien	I	Zahlreiche Koli und nicht verflüssigende, wenige verflüssigende Kolonien
	II	Zahlreiche Koli, wenige verflüssigende Kolonien	II	Wie I
	III	Wie II	III	Viele Koli, viele nicht verflüssigende Kolonien
	IV	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien		
Nach 6 Stunden	I	Viele Koli, wenige verflüssigende Kolonien	I	Viele Koli und nicht verflüssigende Kolonien
	II	Keine Koli, einige nicht verflüssigende Kolonien	II	Viele Koli, verflüssigende und nicht verflüssigende Kolonien
	III	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	III	Viele Koli, viele verflüssigende Kolonien
	IV	Wenige Koli, viele verflüssigende Kolonien		

Zeit der Probe-entnahme	Nr. der Proben	Proben aus den oberflächlichen Partien	Nr. der Proben	Proben aus der Tiefe
Nach 8 Stunden	I	Zahlreiche Koli, wenige verflüssigende Kolonien	I	Wenige Koli und verflüssigende, viele nicht verflüssigende Kolonien
	II	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien		
	III	Zahlreiche Koli, wenige verflüssigende Kolonien	II	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien
	IV	Keine Koli, wenige nicht verflüssigende Kolonien	III	Wenige Koli, viele verflüssigende Kolonien
Nach 24 Stunden	I	Wenige Koli, viele nicht verflüssigende Kolonien	I	Wenig. Koli, viele nicht verflüssig. Kolonien
	II	Keine Koli, einige nicht verflüssigende Kolonien		
	III	Einzelne Koli und verflüssigende Kolonien	II	Wenige Koli, einzelne verflüssigd. Kolonien
	IV	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien		Kontrolle vor der Einwirkung des Desinfiziens entnommen: Zahlreiche Koli, wenig verflüssigd. u. nicht verflüss. Kolon.
			III	Wie II
Nach 26 Stunden	I	Keine Koli, viele nicht verflüssigende Kolonien	I	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien
	II	Platte steril	II	Wie I
	III	Wie II		
	IV	Keine Koli, wenige nicht verflüssigende Kolonien	III	Keine Koli, einzelne nicht verflüssigende Kolonien

Tabelle XVIII.

Zeit der Probe-entnahme	Nr. der Proben	Proben aus den oberflächlichen Partien	Nr. der Proben	Proben aus der Tiefe
Nach 2 Stunden	I	Viele Koli und verflüssigende Kolonien	I	Zahlreiche Koli und verflüssigende Kolonien
	II	Einzelne Koli, viele verflüssigende Kolonien	II	Wie I
	III	Keine Koli, einige verflüssigende Kolonien	III	Zahlreiche Koli, verflüssigende und nicht verflüssigende Kolonien
	IV	Einzelne Koli und nicht verflüssigende Kolonien		
Nach 4 Stunden	I	Einzelne Koli, viele verflüssigende Kolonien	I	Viele Koli, verflüssigende und nicht verflüssigende Kolonien
	II	Platte verflüssigt	II	Viele Koli und verflüssigende, wenige nicht verflüssigende Kolonien
	III	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien		
	IV	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien	III	Viele Koli und nicht verflüssigende Kolonien

Zeit der Probe-entnahme	Nr. der Proben	Proben aus den oberflächlichen Partien	Nr. der Proben	Proben aus der Tiefe
Nach 6 Stunden	I	Spärliche Koli und verflüssigende Kolonien	I	Platte verflüssigt
	II	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien	II	Viele Koli und verflüssigende Kolonien
	III	Zahlreiche Koli, wenige verflüssigende Kolonien	III	Spärliche Koli, verflüssigende und nicht verflüssigende Kolonien
	IV	Vereinzelte Koli u. verflüssigende Kolonien		
Nach 8 Stunden	I	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	I	Zahlreiche Koli und verflüssigende Kolonien
	II	Vereinzelte Koli, viele nicht verflüssigende Kolonien	II	Viele Koli, einzelne verflüssigende und nicht verflüssigende Kolonien
	III	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien	III	Zahlreiche Koli und verflüssigende Kolonien
	IV	Wenige Koli, zahlreiche verflüssigende Kolonien		
Nach 24 Stunden	I	Vereinzelte Koli, viele verflüssigende Kolonien	I	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien
	II	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien	II	Wenige Koli und viele nicht verflüssigende Kolonien
	III	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien	III	Vereinzelte Koli und verflüssigende Kolonien
	IV	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien		
Nach 26 Stunden	I	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien	I	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien
	II	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	II	Keine Koli, einzelne nicht verflüssigende Kolonien
	III	Wie II	III	Vereinzelte Koli und verflüssigende Kolonien
	IV	Einzelne Koli und verflüssigende Kolonien		
Nach 28 Stunden	I	Platte steril	I	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien
	II	Keine Koli, viele nicht verflüssigende Kolonien	II	Einzelne Koli und verflüssigende Kolonien
	III	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	III	Wie II
	IV	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien		

Zeit der Probe-entnahme	Nr. der Proben	Proben aus den oberflächlichen Partien	Nr. der Proben	Proben aus der Tiefe
Nach 30 Stunden	I	Keine Koli, einzelne verflüssigende und nicht verflüssigende Kolonien	I	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien (Kontrolle v. Einwirkg. d. Desinfiziens)
	II	Platte steril	II	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien (Viele Koli u. verflüssigd. Kolonien)
	III	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	III	Keine Koli, einige verflüssigende und nicht verflüssigende Kolonien
	IV	Platte steril		

Tabelle XIX.

Nach 2 Stunden	I	Keine Koli, einzelne nicht verflüssigende Kolonien	I	Einzelne Koli und nicht verflüssigende Kolonien
	II	Einzelne Koli und nicht verflüssigende Kolonien	II	Wenige Koli, wenige verflüssigende Kolonien
	III	Platte steril	III	Wenige Koli, einige verflüssigende Kolonien
	IV	Keine Koli, einzelne nicht verflüssigende Kolonien		
Nach 4 Stunden	I	Keine Koli, einige verflüssigende Kolonien	I	Spärliche Koli, einige verflüssigende Kolonien
	II	Platte steril	II	Einzelne Koli und nicht verflüssigende Kolonien
	III	dto.	III	Wie II
	IV	dto		
Nach 6 Stunden	I	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	I	Einzelne Koli und verflüssigende Kolonien
	II	Keine Koli, einige nicht verflüssigende Kolonien	II	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien
	III	Wenige Koli (Reinkultur)	III	Platte steril
	IV	Einzelne Koli und nicht verflüssigende Kolonien		
Nach 8 Stunden	I	Keine Koli, einige verflüssigende Kolonien	I	Wenige Koli, einige nicht verflüssigende Kolonien
	II	Wenige Koli und verflüssigende Kolvnien	II	Platte steril
	III	Platte steril	III	Einzelne Koli, nur wenige verflüssigende Kolonien
	IV	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien		

Zeit der Probe entnahme	Nr. der Proben	Proben aus den oberflächlichen Partien	Nr. der Proben	Proben aus der Tiefe
Nach 24 Stunden	I	Platte steril	I	Keine Koli, einige verflüssigende Kolonien (Kontrolle vor d. Einwirkung des Desinfiziens)
	II	dto.		
	III	Keine Koli, wenig verflüssigende Kolonien		
	IV	Platte steril	II	Platte steril (Viele Koli und einzelne verflüssig. Kolonien)
			III	dto.

Tabelle XX.

Nach 2 Stunden	I	Keine Koli, wenig verflüssigende Kolonien	I	Wenige Koli, verflüssigende und nicht verflüssigende Kolonien
	II	Wie I		
	III	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien	II	Zahlreiche Koli und nicht verflüssigende Kolonien
	IV	Keine Koli, wenig verflüssigende Kolonien	III	Wenige Koli und verflüssigende Kolonien
Nach 4 Stunden	I	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	I	Wenige Koli und nicht verflüssigende Kolonien
	II	Wie I	II	Vereinzelte Koli, wenige verflüssigende Kolonien
	III	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien	III	Zahlreiche Koli und einzelne verflüssigende Kolonien
	IV	Einzelne Koli und verflüssigende Kolonien		
Nach 6 Stunden	I	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien	I	Keine Koli, wenig verflüssigende Kolonien
	II	Platte steril	II	Wie I
	III	Keine Koli, einige verflüssigende Kolonien	III	Zahlreiche Koli, viele nicht verflüssigende Kolonien
	IV	Platte steril		
Nach 8 Stunden	I	Keine Koli, wenig verflüssigende Kolonien	I	Keine Koli, einige nicht verflüssigende Kolonien
	II	Platte steril	II	Wenige Koli und nicht verflüssigende Kolonien
	III	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien	III	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien
	IV	Platte steril		

Zeit der Probeentnahme	Nr. der Proben	Proben aus den oberflächlichen Partien	Nr. der Proben	Proben aus der Tiefe
Nach 24 Stunden	I	Keine Koli, vereinzelte verflüssigende Kolonien	I	Keine Koli, wenige verflüssigende Kolonien
	II	Platte steril	II	Wie I
	III	dto.	III	Keine Koli, wenige nicht verflüssigde. Kolonien — Kontrolle vor d. Einwirkung des Desinfiziens
	IV	Keine Koli, wenig verflüssigende Kolonien		
Nach 26 Stunden	I	Platte steril	I	Keine Koli, einzelne verflüssigende Kolonien — Zahlreiche Koli und nicht verflüssig. Kolonien
	II	Keine Koli, einige verflüssigende Kolonien	II	Keine Koli, wenige nicht verflüssigende Kolonien
	III	Platte steril	III	Platte steril
	IV	dto.		

Zum Schlusse sei mir noch gestattet, meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Kolle, für die Überlassung des Themas und die reiche Unterstützung zur Förderung meiner Arbeit, sowie den Assistenten des Institutes, Herrn Privatdozent Dr. O. Heller und Herrn Dr. Tomarkin, für die mir erteilten Ratschläge meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1. Dinglers Polytechnisches Journal, Bd. 187 (1868), S. 439.
2. Reinigung und Entwässerung Berlins, Heft I und Generalbericht.
3. Dinglers Polytechnisches Journal, Bd. 197 (1870).
4. Küchenmeister, Allgemeine Zeitschrift für Epidemiologie. Bd. I. S. 314 (1874).
5. Robert Koch, Über Desinfektion. Mitteilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt. Bd. I (1881).
6. P. Liborius, Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung des Kalkes. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2, S. 15—51 (1887).
7. Kitasato, Über das Verhalten der Typhus- und Cholerabazillen zu säure- oder alkalihaltigen Nährböden. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3, S. 404 (1888).
8. H. Jaeger, Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel bei kurzdauernder Einwirkung auf Infektionsstoffe. Arbeit aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt. Bd. 3, S. 247 (1889).
9. Giaxa, Sur l'action désinfectante du blanchiment des murs au lait de chaux. Annales de micrograph. (1890), S. 305—321.
10. Cronberg, Zur Desinfektion von Wohnungen. Arch f. Hyg. Bd. 13 (1891).
11. E. Pfuhl, Über die Desinfektion der Typhus- und Choleraausleerungen mit Kalk. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7 (1889).
12. E. Pfuhl, Über die Desinfektion der Latrinen mit Kalk. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7 (1889).
13. Behring, Über Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg. Bd. IX, S. 394 (1890).
14. E. Pfuhl, Die Desinfektion der städtischen Abwässer mit Kalk. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12 (1892).
15. G. Grether, Betrachtungen zur Frage der Abwasserreinigungen. Archiv f. Hyg. Bd. 27, S. 189 (1896).
16. J. König, Verunreinigung der Gewässer II. Berlin 1899.
17. K. Fränkel, Untersuchungen über Brunnendesinfektion und den Keimgehalt des Grundwassers. Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI (1889).
18. Th. Beyer, Über Wäschedesinfektion mit 3 % Schmierseifenlösungen und mit Kalkwasser. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 22 (1896).
19. Dunbar und Zirn, Beitrag zur Frage über die Desinfektion städtischer Abwässer. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Medizin. 3. F. 16 (1898) mit Supplem.
20. Proskauer und Elsner, Hygienische Untersuchungen des Kohlebreiverfahrens zur Abwässerreinigung. Vierteljahrsschrift f. gerichtl. Medizin. 3. F 16 (1898) Mit Supplem. S. 164.
21. Elsner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 21 (1896).

22. J. B. Citron. Kalkwasser und Kalkmilch als Desinfektionsmittel. Inaug.-Dissert. Freiburg i. B. 1902.

23. Mosebach, Untersuchung z. Praxis d. Desinfekt. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50.

24 Karlinski, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von W. Kolle und A. Wassermann. Bd. III, S. 636.

25. Salmon und Smith: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von W. Kolle und A. Wassermann. Bd. III, S. 636.

26. Behring, Über Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg. Bd. IX, S. 394 (1890).

27. A. Gärtner, Allgemeine Prophylaxe. Die Verhütung der Übertragung und Verbreitung ansteckender Krankheiten. Handbuch der Therapie innerer Krankheiten von Penzolt-Stintzing. III. Aufl. I. Bd. Jena 1902.

28. B. Krüger, Die physikalische Einwirkung von Sinkstoffen auf die im Wasser befindlichen Mikroorganismen. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7 (1889).

29. Citron, Inaug.-Dissertation.

30. B. Krönig und Th. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25, S. 32 (1897).

31. Hammersten, Fibrinbildung. Zeitschr. f. physik. Chemie. 28, 98 (1899).

32. Behring, Über Desinfektion, Desinfektionsmittel, Desinfektionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9, S. 394 (1890).

33. v. Lingelsheim, Beiträge zur Aethiologie des Milzbrandes. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8 (1890).

34. O. Boer, Die Leistungsfähigkeit mehrerer chemischer Desinfektionsmittel bei einigen für den Menschen pathogenen Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9 (1890).

35. Th. Paul und B. Krönig, Über das Verhalten der Bakterien zu chemischen Reagentien. Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. 21 (1896).

36. B. Krönig und Th. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Desinfektion. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25 (1897), S. 3.

37. Dieselben, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25 (1897), S. 3.

38. M. Kaiser, Über die Desinfektion infektiöser Darmentleerungen. Archiv f. Hyg. Bd. 60 (1907).

Über den Einflufs der Einatmungen reizender Gase der Industrien auf die Verteidigungskräfte des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten.

Experimental-Untersuchungen

von

Dr. **Enrico Ronzani**,
Assistent.

(Hygiene-Institut der Kgl. Universität Padua. Leiter: Prof. A. Serafini.)

I. Teil.

Chlor, Schweflige Säure, Stickstofftetroxyd.

Wenn dank den Arbeiten Eulenbergs, Hirts und zumal denjenigen von Ogata und Lehmann die Studien über den Einflufs der Einatmung der sogen. reizenden und giftigen Gase im Hinblick auf die anatomischen Veränderungen der verschiedenen Organe und Apparate verhältnismäfsig zahlreich sind, so erweisen sich als überaus spärlich anderseits diejenigen, welche von der Wirkung handeln, die diese Gase auf die Entwicklung der infektiven Krankheiten auszuüben vermögen.

Sehr mit Recht beklagte es Di Mattei in seiner Arbeit »Über die Prädisposition zu den infektiven Krankheiten mittelst der Einatmung giftiger Gase«, dafs dieses Studium ganz und gar nicht gründlich behandelt sei. Immerhin hat sich nach ihm, soviel ich weifs, niemand anderer als Kifskalt der Sache angenommen, und auch dieser trägt uns nur einseitige Untersuchungen über den Einflufs der Einatmungen des SO_2 bei der

Entwicklung der Tuberkulose vor, obzwar doch die Frage heutigentags im Angesichte des enormen Aufschwunges der verschiedenen Industrien so auſserordentlich wichtig ist.

Ich habe deshalb geglaubt, daſs das Argument der Erwägung wert sei, um zur Lösung einiger Probleme industrieller Hygiene, über die man noch wenig weiſs, beizutragen. Aufgabe meiner vorliegenden Arbeit ist das Studium der Umwandlungen, welche ein Organismus in seinen verschiedenen, gegen die Infektion gerichteten Verteidigungsmitteln im Verlauf länger dauernder Einatmung von bekannten Mengen der hauptsächlichen unter den sogen. reizenden Gasen (Chlor, schweflige Säure, Stickstofftetroxyd, Ammoniak etc.) erleidet.

Aus der Aufzählung dessen, was ich mir zum Ziele experimenteller Studien gesetzt, versteht man bereits, daſs meine Untersuchungen ihrer ganzen Natur nach nur an Tieren vorgenommen zu werden vermögen; immerhin werde ich mich freuen, wenn sie dem Kliniker Hilfsdienste leisten können zur besseren Beleuchtung der Pathologie der Arbeit, und wenn sie im geeigneten Falle ein Hindernis ergeben dafür, daſs die Industriellen, sei es aus Unwissenheit oder aus Unehrlichkeit die Gesundheit ihrer Arbeiter und vielleicht auch jener Leute, die in der Nähe ihrer Fabriken wohnen, schädigen.

In alledem, was die Orientierung meiner Experimente angeht, habe ich mich nach Möglichkeit den Bedingungen zu nähern versucht, in denen sich der Arbeiter in den Fabriken zumeist befindet, sei dies nun im Hinblick auf die Menge der Gase, die ich die Tiere einatmen lieſs, sei es in bezug auf die tägliche Dauer der Inhalationen.

Ich habe es sogar für passend befunden, unter Anlehnung an die Beispiele Ogatas und Lehmanns, welche mit gröſserem wissenschaftlichem Ernste als die übrigen vorgenannten Experimentatoren ihre Untersuchungen über die Veränderungen der hauptsächlichsten Organe infolge von Einatmungen schädlicher Gase betrieben, die Gasmenge, welche die Versuchstiere einzuatmen gezwungen waren, mit einer gewissen Genauigkeit festzustellen.

Es war nicht meine Absicht, die Tiere mit starken auf Zufall verteilten Dosen derart leidend zu machen, dafs sie ihre Leiden deutlich zur Schau trugen, da diese Zustände, von Ausnahmefällen abgesehen, nicht den Durchschnittszuständen entsprochen hätten, in denen sich der Arbeiter in den Fabriken befindet. Nicht die starken Dosen sind es, um die wir uns in erster Linie zu kümmern haben, sondern vielmehr die ganz kleinen, die, obzwar sie das Individuum im Zustande der Arbeitsfähigkeit belassen, dennoch mit langsamer und grausamer Hinterlist nach und nach den organischen Widerstand vermindern und die Existenz untergraben. Und im Verfolg dieser Erwägungen geschah es, dafs ich verschiedene Reihen von Tieren verschiedene, verhältnismäfsig kleine Dosen von Gas einnehmen liefs, um schliefslich für die den Versuchen unterzogenen Tiere die Höchstmenge des Gases feststellen zu können, die, auch geraume Zeit hindurch, eingeatmet zu werden vermag, ohne dafs die natürlichen Schutzkräfte gegenüber den infektiven Krankheiten Schaden zu erleiden haben.

Im Anfang meiner Versuche mufste ich für jede Gasart ein wenig tastend, mit vorläufigen Proben vorgehen, unter breiter Anlehnung an die Daten Lehmanns für jene Gase, die er im Bereich der reizenden studierte.

Die von mir für die Versuche ausgewählten Tiere waren die Kaninchen, die Meerschweinchen und die Tauben. Dieselben wurden insgesamt, in verschiedene gut unterschiedene Gruppen abgeteilt, längere Zeit hindurch jeden Tag 6—7 Stunden lang der Einatmung von Luft unterworfen, welche eine bestimmte Menge Gas enthielt, eine Menge zwar, die ich für die ganze Zeit des Experiments konstant erhielt.

Nach Verlauf der für die Einatmungen festgesetzten Zeit (über einen Monat), einer Periode, die ich die vorbereitende für die Tiere heifsen möchte, und während welcher ich für jede Gruppe der vorbereiteten Tiere ebensolche Gruppen von Kontrolltieren unterhielt, schickte ich mich mit ihnen zu den folgenden Nachforschungen an:

1. Bezgl. der Umänderungen in der Hervorbringung agglutinierender Substanz;
2. bezgl. der Umänderungen des immunisierenden Wertes des Blutserums gemäfs der Pfeifferschen Methode;
3. bezgl. der Umänderungen im bakteriziden Vermögen der Lungen;
4. bezgl. des Verhaltens der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virus virulenti;
5. bezgl. des Verhaltens der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächtem Virus, und
6. bezgl. des Verhaltens der immunen Tiere gegenüber virus virulenti.

Diesen Untersuchungen liefs ich immer vorausgehen: a) eine doppelte Blutprobe aller Tiere vom Gesichtspunkte des Hämoglobingehaltes wie der Zahl der roten Blutkörperchen aus; diese Probe wurde vorgenommen, bevor die Tiere den Gaseinatmungen unterzogen wurden und nachdem sie dieselben erlitten hatten; b) die Feststellung des Gewichtes des Versuchstieres, um ein Kriterium auch über seine Ernährung zu haben; c) die spektroskopische Prüfung des Blutes.

Die von mir befolgte Technik, um die Tiere die verschiedenen Luft- und Gasmischungen einatmen zu lassen, unterscheidet sich teilweise von der von Lehmann und anderen befolgten; dies ob der bedeutenden Zahl von Tieren, die für die mir gestellten Versuche nötig waren. In der Tat wäre es mir um dieses Hauptgrundes willen nicht möglich gewesen, den prächtigen, von Voit erfundenen und von Pettenkofer modifizierten Respirationsapparat in Anwendung zu bringen. Ich mufste mich also mit einfacheren, leichter zu handhabenden Mitteln begnügen und unter diesen erschien mir als das geeignetste dasjenige, die Tiere in Kammern atmen zu lassen, wobei ich jedoch die für dieses System beklagten Unzuträglichkeiten zu vermeiden suchte. Man hat behauptet, und dies mit Grund, dafs mit dem Einsetzen der Tiere in kleine Räume, um sie darin ein gegebenes Gas einatmen zu lassen, nicht die absolute Garantie geboten sei, dafs die Störungen, die sich am Tiere bemerkbar machen, ausschliefslich

vom eingeatmeten Gase abhingen, da recht wohl die übermäfsige Menge von CO_2, die Zunahme der Temperatur und die übermäfsige Feuchtigkeit, Modifikationen der Luft, die der Gegenwart der Tiere selbst zu verdanken seien, ihren Anteil daran haben könnten. Um dieser Unzuträglichkeit abzuhelfen, liefs ich keine einfachen Kistchen, sondern wirkliche Kammern in Holz von viereckiger Form und über 1 cbm Kapazität für jede herstellen. Diese Kammern wurden auf zwei Seiten mit einander gegenüberliegenden Fenstern versehen, um die Tiere von aufsen überwachen zu können, und mit einer grofsen, den ganzen Wandraum einnehmenden Türe auf einer dritten Seite; im Innern wurde dann ein Rost zur Stütze der auf einem Drittel der Kammerhöhe gehaltenen Tiere angebracht und in der oberen Hälfte ein kleiner von aufsen zu handhabender Ventilator. Der Boden wurde mit Metallblech ausgeschlagen, das nach einem Winkel der Kammer zu abfiel und mit einer Öffnung zur Ablassung des Urins versehen war.

In diese Kammern wurden die Tiere eingeführt und immer in solcher Anzahl, dafs sie nach einer halbstündigen Anwesenheit keine bemerkenswerten Alterationen der Luft ergaben, die imstande gewesen wären, den Tieren selbst Schaden zu bringen.

Nach Verlauf einer halben Stunde wurden die grofsen Türen der Kammern geöffnet und die Ventilatoren in Betrieb gesetzt und nachdem in kurzer Zeit die Luft erneuert war, wurden die Türen von neuem geschlossen und eine neue Gasmenge gelangte zur Einführung; dergestalt wurde 6 oder 7 Stunden am Tage abgewechselt.

Unnütz zu sagen, dafs sich die Wände der Kammern gut zusammenfügten, und dafs die Türen, zu diesen Zwecken mit besonderen Vorrichtungen versehen, vollkommen schlossen.

Um die Aufsaugung des Gases von seiten des Holzes zu verhindern, wodurch sich die Versuchsverhältnisse abgeändert hätten, wurden die inneren Wände der Kammern und alles sonst darin Befindliche mit einer dicken Paraffinschicht überzogen.

Um in der Folge nicht in Wiederholungen zu verfallen, hielt ich es für angezeigt, hier gleich zu Anfang die von mir für die oberwähnten Sonderuntersuchungen befolgten Methoden zu beschreiben, wobei ich mir nur für Gelegenheitshinweise die Beschreibung einiger kleiner Modifikationen vorbehalte, die mir der Sonderfall auferlegte; es sind die folgenden:

a) Bestimmung des agglutinierenden Vermögens des Blutes immunisierter Tiere gegenüber einer gegebenen Infektion.

Zur Hervorbringung der agglutinierenden Substanz immunisierte ich die Kaninchen gegen die Typhusinfektion und unter den verschiedenen für diesen Zweck geltenden Methoden wählte ich diejenige der Inokulation der löslichen toxischen Produkte, welche man erhält, indem man durch Chamberlandkerzen hindurch achttägige lebende und virulente Typhuskulturen in Bouillon filtriert.

Die Inokulationen des derart filtrierten Toxins wurden unter der Rückenhaut der Tiere vorgenommen und zwar zweimal und mit einem viertägigen Abstande, in Dosen von 0,4—0,8 ccm für je 100 g des Tiergewichts. Zwischen die letzte Toxininjektion und die Blutentziehung legte ich dann etwa 8 Tage Zwischenraum, da es bekannt ist, daſs sich erst gegen den achten Tag von der letzten Inokulation an gerechnet die Höchstproduktion an agglutinierender Substanz ergibt. Gleiche Behandlung erlitten auch die Kontrolltiere.

Das diesen Tieren entzogene Blut wurde in Eprouvetten gesammelt und sofort der Zentrifugalbehandlung unterworfen, um eine schnelle Trennung des Serums für die Bestimmung seines agglutinierenden Vermögens zu erhalten.

Verschieden sind die Wege, die man zu dieser Bestimmung verfolgt und mannigfach oft die Ergebnisse, je nach der Zahl der in der für die Reaktion dienenden Kultur enthaltenen Keime.

Einige pflegen die Kulturschicht in Typhusagar mit destilliertem Wasser aufzulösen, andere bringen den B. des Typhus in Bouillon zur Entwicklung, bis die Kultur einen gewissen Grad

von Trübung annimmt, der sich mit einer trüben Flüssigkeitsprobe vergleichen läfst; andere hinwiederum streuen ein einziges Schälchen von Typhuskultur in Agar in eine bestimmte Menge von Bouillon, wobei sie für eine ganze Reihe von Untersuchungen immer die gleiche Bouillonbeschaffenheit verwenden und diese Kulturen im Thermostat bei 37° C durch nur 5 Stunden erhalten. Mit dieser Methode vermag man derart bei der gleichen Volumeneinheit nahezu die gleiche Keimzahl zu erhalten, und zwar eine verhältnismäfsig kleine Zahl in Ansehung der kurzen Entwicklungszeit, weshalb die Gefahr fast ausgeschlossen erscheint, in der Kultur bereits eine Anhäufung von Keimen vorzufinden.

Nachdem ich einige vergleichende Proben unter diesen verschiedenen Methoden angestellt hatte, hielt ich es für angezeigt, mich der letzteren anzuschliefsen, die mir die sicherste und praktischste erschien; gleicher Meinung mit mir war auch Graziani in seinen Untersuchungen über den Einflufs der Temperatur auf die Hervorbringung agglutinierender Substanz.

Nachdem in bezeichneter Weise die Sera und Typhuskulturen erlangt waren, ging ich zur Bezeichnung von diesen über, welche Operation ich immer am gleichen Tage für eine gegebene Tiergruppe zugleich mit den Kontrolltieren vornahm.

Um Mifsverständnissen vorzubeugen, mufs ich noch hinzufügen, dafs ich als Maximalgrenze des agglutinierenden Vermögens jene Mischung von Kultur und Serum annahm, in der sich nach 30 Minuten Ruhepause bei 20° C unter dem Mikroskop noch Bazillengruppen verschiedener Individuen beobachten liefsen, und dafs in den verschiedenen Mischungen von Kultur und Serum die Zahl der Kulturtropfen immer unverändert blieb, während hingegen die Verdünnungen des Serums variierten; dafs schliefslich die von mir gebrauchten Kulturen zuvor mit dem Mikroskop geprüft wurden, um im Hinblick auf die völlige Abwesenheit von bazillären Anhäufungen sicherzugehen.

b) Im Hinblick auf die Untersuchungen über die Bestimmung des immunisierenden Wertes des Blutserums der präparierten Tiere und der respektiven Kontrolltiere befolgte ich die nachfolgende Technik:

Ich immunisierte zunächst gegen den Typhus für jede Versuchsgruppe eine gewisse Anzahl von Meerschweinchen, die die Gaseinatmung erlitten hatte, und ebensoviel Kontrolltiere von nahezu dem gleichen Gewicht, ins Peritoneum jedes Meerschweinchens die Deckschicht einer Typhuskultur in Agar von 24 Stunden einimpfend, welche eine Stunde lang bei 66° C erhitzt worden war. Gegen den 13. Tag, während welcher Zeitdauer die Meerschweinchen mit Ausnahme der Kontrolltiere immer die bestimmte, für sie festgesetzte Menge Gas einzuatmen bekommen hatten, entzog ich ihnen Blut unter Trennung des Serums, das sicherlich, wenigstens bei den Kontrolltieren, typhische Antikörper enthalten mufste. (Die Blutentziehung gegen den 13. Tag ist durch die von Deutsch angetroffene Tatsache gerechtfertigt, dafs sich erst nach dieser Zeitperiode das höchste Schutzvermögen ergibt.)

Nach und nach wurde das Serum der verschiedenen Tiere in verschiedenen Mengen mit einer Menge von virulenter Typhuskultur in doppelt tödlicher Dosis vermischt; einer Dosis, die für die von mir besessene Typhuskultur aus einer halben Deckschichte in Kulturagar von 24 Stunden bestand, und dann erfolgte Einimpfung ins Peritoneum anderer Meerschweinchen gleichen Gewichtes, um in der Folge den Serumtitel festzustellen. Es ist dies die delikateste Operation der ganzen Untersuchung, da es sich hierbei nicht blofs um die Feststellung einer chemischen Reaktion als vielmehr um diejenige einer komplexen biologischen Tatsache handelt, aus welchem Grunde ich bei diesen Versuchen verschiedene Tiere zu verwenden bemüht war, um gewisse individuelle Differenzen auszuschliefsen, die mich von der richtigen Auslegung der eigentlichen Tatsachen hätten abbringen können.

Ich erhielt die Typhuskultur von bekannter Virulenz, indem ich verschiedene Übergänge der von mir besessenen Kulturen ins Peritoneum verschiedener Meerschweinchen machte, anfangs auch in Kollodiumsäckchen, bis ein Viertel der Kulturdeckschicht in Agar von 24 Stunden ein Meerschweinchen von 350 g in etwa 12 Stunden zu töten vermochte. Ich vermied immer bei den

endoperitonealen Inokulationen mit Verdünnungen in Bouillon von Serum und Bazillen die Einführung von grofsen Flüssigkeitsmengen in die Bauchhöhle der Tiere, da dieselben, wie bekannt, Alterationen des Phänomens herbeizuführen vermocht hätten, sei es durch den behinderten Leukozytenzuflufs, sei es, weil grofse Bouillonmassen vorzügliches Kulturmittel für Keime geworden wären.

Schliefslich erachtete ich im Besitze des Schutztitels jene Minimalmenge von Serum, welche, der zweimal sicherlich tödlichen Dosis von Typhuskultur beigefügt und ins Peritoneum der Meerschweinchen eingeführt, das Tier vom Tode errettete.

c) Erforschung des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Bei dieser meiner Studie über den Einflufs der Gase, die vor allem mittels der Atmungswege in den Organismus gelangen, schien es mir nötig, direkt im Lungenbereich nachzuforschen, welche Modifikationen sich hier in den verschiedenen Vorrichtungen zum Schutze gegen die Keime ergeben, Vorrichtungen, welche seit langer Zeit von Heck, von Ribbert, von Buchner, von Paul und von mir anerkannt wurden.

Die für derlei Nachforschungen gebrauchte Technik war die auch in einer früheren Arbeit von mir gebrauchte, die »über das Verhalten des bakteriziden Vermögens der Lungen gegenüber einigen Ursachen, die dasselbe modifizieren können«, handelt. Die Gruppen der präparierten Meerschweinchen wurden zugleich mit ebensovielen Kontrolltieren in mein Kästchen für die Keiminhalation[1]) gesetzt, in welchem sie durch 20 Minuten Luft einatmen mufsten, die mit feinsten Tröpfchen von Bouillonkultur des b. prodigiosus geschwängert war.

Nach dieser Operation wurden ein oder zwei Tiere sofort geopfert, um annähernd erfahren zu können, wie grofs die Zahl des eingeatmeten b. prodigiosus pro ccm Lunge war, und nach und nach wurden zu festgesetzten Zeitpunkten je zwei und zwei

1) Annali d'Igiene sperimentale 1905, S. 99. — Archiv für Hygiene, Bd. LXIII, S. 339.

der Tierchen getötet, um festzustellen, in wieviel Zeit und in welchen Proportionen die Lunge imstande war, die eingeatmeten Keime zu zerstören.

Zu diesem Zwecke entzog ich, nachdem das Tier mit einem guten Nackenschlag getötet worden war, mit allen Vorschriften der Asepsis die zu examinierenden Lungenstücke, dabei sowohl fürs Versuchstier als auch für dasjenige der Kontrolle stets die gleichen Lungenstücke nehmend (Portio vom Apix der rechten Lunge, Stück vom rechten unteren Lungenlappen, zur Mitte desselben entnommen, Stück von der Basis des linken unteren Lungenlappens). Von jedem in Prüfung genommenen Stücke wurde das Volumen festgestellt, und sowohl für diese Feststellung als auch für die nachfolgende Zermahlung des Organs in destilliertem und sterilisiertem Wasser bediente ich mich meiner graduierten Zylinderpestells, die sich auch in meinen obenerwähnten früheren Untersuchungen prächtig bewährten.

Mit der derart erhaltenen Emulsion der in Prüfung genommenen Lungenteile bereitete ich verschiedene Plättchen in Agar, welche bei 30° C bis zur vollen Entwicklung der Kolonien des b. prodigiosus, die ich zu zählen hatte, gehalten wurden.

Aus der Zahl dieser auf 1 ccm Lunge berechneten Kolonien, aus der zwischen der Inhalation des b. prodigiosus und der Tötung des Tieres verstrichenen Zeit und aus dem Volumen des geprüften Stückes vermochte ich unter Gegenwärtighaltung der Ergebnisse der Kontrolltiere schlieſslich die Vermehrung oder Verminderung dieses Verteidigungsvermögens abzuleiten.

d) Inokulation von virulenten pathogenen Keimen in rezeptiven Tieren.

In dieser Hinsicht bediente ich mich der folgenden Mikroorganismen: des b. des hämatischen Milzbrandes, des Fränkelschen Diplokokkus des Typhusb. für die Inokulationen unter die Haut und ins Peritoneum und des b. der Tuberkulose für Lungenimpfungen, indem ich die Tiere in das oberwähnte Inhalationskästchen setzte und nahezu die gleiche Methode be-

folgte, die mir für die Inhalationen des b. prodigiosus gedient, nur dafs die Keime anstatt mittels feinster Tropfen von Bouillonkultur in das Kistchen getrieben zu werden, mit Lykopodiumpulver gemischt eingeführt wurden.

Die Mischung wurde im voraus bereitet, indem der von zweifellos tuberkulösen Kranken stammenden Sputa das Pulver des Lykopodium beigefügt wurde, welches nach der Trocknung gemahlen worden war. Um auch ein Kriterium über die Quantität der einzuimpfenden Kulturen zu haben, wurden die letzteren im Hinblick auf ihre Virulenz, bevor die Inokulationen in den Versuchstieren vorgenommen wurden, an anderen Tieren probiert, um die tödliche Minimaldosis kennen zu lernen.

e) Inokulation von abgeschwächten pathogenen Keimen in rezeptiven Tieren.

Delikater als die vorhergehende erwies sich diese Untersuchung, nicht um der Schwierigkeit willen, die Herabsetzung in der Virulenz der Mikroorganismen zu erhalten, als vielmehr darum, jenen Grad von Abschwächung der Kulturen zu finden, der sie in den Stand setze, die in normalen Verhältnissen befindlichen Tiere nicht mehr zu töten, wohl aber für jene letal zu werden, die etwa geschwächt wären.

Die abgeschwächten Milzbrandkulturen in Bouillon wurden erhalten, indem sie etwa 18 Tage bei 42° C gehalten wurden, d. h. bis sich ergab, dafs eine gegebene Menge von ihnen nicht mehr imstande war, das gesunde Tier zu töten, dafs jedoch die Inokulation einer doppelten Menge zum Ziele führe.

Für den Typhus ergründete ich hingegen die tödliche Minimaldosis, indem ich die Hälfte dieser Dosis inokulierte.

Für den Pneumokokkus gebrauchte ich Bouillonkulturen von etwa einer Woche, die aus dem Blute eines an dieser Infektion verendeten Kaninchens gewonnen worden waren. Diese Kulturen brachten im allgemeinen in der Dosis von etwa 1 ccm den Tod des Kaninchens nicht mehr hervor, der sich hingegen mit einer doppelten Quantität erzielen liefs.

f) Inokulationen von virulenten pathogenen Keimen in immune Tiere.

Die für diesen Zweck gewählten Tiere waren die Tauben und der in Verwendung gebrachte Keim jener des hämatischen Milzbrandes. Die Dosen der inokulierten Kulturen waren immer das Doppelte der tödlichen Minimaldose. Die Inokulationen wurden immer unter der Haut des Rückens vorgenommen.

Inhalationen von Chlor.

Zahlreich sind die Industrien, in denen das Chlor, diese unter die schädlichsten Gase eingereihte Substanz, zur Entwicklung gelangt, weshalb anderseits die Zahl der Arbeiter erheblich ist, welche gezwungen sind, sich mit demselben in Kontakt zu halten und leider die traurigen Folgen davon zu tragen.

Zahlreich sind die Fälle von Vergiftung, die von Hallelt, Malder und Dieudonné etc. studiert und beschrieben wurden, zahlreich ebenso die Studien über die direkten Leiden und die übrigen krankhaften Zustände der verschiedenen Organe, die von diesem Gas verursacht wurden und die speziell Falk, Eulemberg u. a. hervorgehoben haben, noch fehlen dank den Arbeiten Hirts auch statistische Daten in bezug auf die Morbilität und Mortalität der Arbeiter, die zur Einatmung des Chlors gezwungen sind. Letzterer stellt in der Tat fest, dafs die Hilfskassen für Kranke, die in einigen englischen und schottischen Fabriken bestehen, in denen Chlor zur Entwicklung gelangt, zur Unterstützung der beschäftigten Arbeiter bedeutende Summen auszahlen, die das Doppelte jener Beiträge ausmachen, die für den gleichen Zweck in Fabriken anderer Art zur Verausgabung gelangen. Unter 1000 Arbeitern, die gezwungen waren, Chlor einzuatmen, müssen im Laufe des Jahres wenigstens 450 bis 500 ob innerer Krankheiten in Behandlung genommen werden, unter denen die Pneumonitis (14%) den ersten Platz hat, während hingegen — immer nach Hirts Angaben — die Lungentuberkulose ziemlich selten wäre; jedoch fügt er hinzu, dafs wenn sich unter diesen Arbeitern jemand mit der Vorveranlagung zur Schwind-

sucht findet, diese einen derart schnellen Verlauf nimmt, dafs sie das Individuum im Verlauf weniger Monate zum Tode führt. In den Fabriken von Glasgow, wo sich ebenfalls reichlich Chlor entwickelt, erreicht die Sterblichkeit unter jenen Arbeitern 2,15% und ihr Durchschnittslebensalter beträgt nur 50,2 Jahre.

Um alles dessen willen und in Erwägung, dafs das Chlor wie gesagt in sehr vielen Fabriken zur Entwicklung gelangt, wie z. B. in denen von Soda, von Chlorkalzium, von Hypochloriten, in den Werkstätten für Bleichung von Leinwand, von Baumwolle, von Schwämmen, von Elfenbein, von Knochen, von Holz, in den Papierfabriken ferner, in den Laboratorien für Temperierung und Ziselierung der Flintenschäfte, in den Verzinkungswerkstätten etc., schien es mir interessant, nicht nur die direkten Modifikationen der Organe zu studieren, wie dies von den erwähnten früheren Forschern geschehen, sondern auch der nicht minder wichtigen Frage der Widerstandskraft gegenüber den Infektionen von seiten jener Organismen, die eine längere dauernde Einwirkung dieses Gases zu erleiden gezwungen sind, näher zu treten.

In Bezug auf den in der Luft der Fabriken festgestellten Chlorgehalt liegen bislang nur wenige Analysen vor; die Literatur berichtet nur jene von Hirt und von Lehmann; und leider kann man sich auch auf diejenigen von Hirt wenig stützen und zwar um deswillen, weil er behauptet, in der Luft der Fabriken nur einen Durchschnitt von 0,5‰ Chlor gefunden zu haben, welche Quantität gemäfs dem Forscher für die Arbeiter völlig unschädlich ist. Hingegen ergaben spätere Untersuchungen, dafs auch wesentlich kleinere Mengen dem Organismus derartige Störungen zufügen, dafs auch der kürzere Aufenthalt in Räumen, die das Gas in derlei Mengenverhältnissen aufwiesen, ohne sehr schwere Gesundheitsschädigung unmöglich wäre. Aus diesem Grunde verbleiben nur die Angaben Lehmanns, aus denen sich ergibt, dafs ein gesunder und starker Mensch nicht länger als 15 Minuten eine Atmosphäre ertragen kann, welche 0,0037‰ an Chlor enthält, und dafs die Luft der Fabriken, in denen Lehmann einige quantitative Untersuchungen anzustellen hatte und

wo die Arbeiter durch etliche Stunden des Tages zu arbeiten gezwungen waren, von 0,001 bis zum Maximum von 0,004‰ an Chlor enthielt; eine Menge, die nach dem Forscher für den nicht daran Gewöhnten schon überaus lästig sich erweist, indem sie Brennen der Augen, Thränen derselben, Nasenkatarrh und Niefsen hervorbringt. Infolgedessen bezeichnet Lehmann die Dosen von 0,001—0,002‰ als nicht schwere, wenig störende, diejenige von 0,003—0,004‰ hingegen als einigermafsen schädliche.

Auf Grund dieser Daten habe ich den Abgangspunkt meiner Versuche festgelegt.

Bevor ich jedoch zur Beschreibung der Versuche übergehe, halte ich es für angezeigt, kurz der Methode zu gedenken, die von mir für die Entwicklung dieses Gases gewählt wurde.

Wie ich schon zu Anfang meiner vorliegenden Arbeit sagte, war es für mich nötig, die Chlormenge zu messen, die ich von Zeit zu Zeit in die Inhalationskammern einführen mufste, um mit der darin enthaltenen Luft jene Mischung zu bilden, mit der ich mir zu experimentieren vorgenommen hatte.

Um dies zu erzielen, entwickelte ich zuerst für sich das Chlor mit Manganese-Bioxyd und Acidum chloridricum in den von nachstehender Formel angegebenen Proportionen:

$$M_n O_2 + 4 HCl = 2 H_2O + M_n Cl_2 + Cl_2,$$

diese Mischung zwischen 40° und 70° C erhitzend; ich sammelte dann das zur Entwicklung gelangte Gas in Glasballons, es dann von denselben in bekannter Menge in die Kammern mittels einer indifferenten Flüssigkeit überführend.

Die zu diesem Zwecke gebrauchte Flüssigkeit war eine bei der Temperatur der Umgebung gesättigte Lösung von Chlornatrium, die in den das Gas enthaltenden Ballon mittels einer Welterschen Röhre hinübergeleitet wurde. Mit Hilfe des Ventilators, den jede Kammer besafs, wurde das Gas dann gut mit der Luft vermischt und gleichmäfsig verteilt.

Die von mir für meine Versuche als erste Dosis gewählte Chlormenge betrug 0,005‰ und mit ihr unternahm ich zu Anfang einige Voruntersuchungen, indem ich in jede der Inhala-

tionskammern immer eine derartige Anzahl von Tieren einführte, dafs dieselbe eine ganze Stunde hindurch gesperrt gehalten werden konnte, ohne dafs sich die Luft durch die Anwesenheit der Tiere selbst erheblich verschlechterte.

Jedoch hatte ich gleich eine Unzukömmlichkeit zu beobachten und zwar die, dafs eine Stunde nach Einführung des Gases in die Kammer fast kein Chlorgeruch mehr in derselben zu beobachten war, während bei einer zur Probe eröffneten Kammer, in welche das Gas in den oben erwähnten Proportionen kaum eingeführt war, der Geruch des Chlors sich so stark und reizend erwies, dafs man ihn kaum aushalten konnte.

Anfangs glaubte ich, dafs das vielleicht von irgendeiner kleinen Öffnung oder unvollständiger Paraffinbestreichung der Kammerwände herrühre, aber ich vermochte bei sorglichem Nachschauen nichts Unvollkommenes von seiten der Kammern selbst zu entdecken und ich entschlofs mich deshalb, die quantitative Feststellung des Chlors zu unternehmen, um zu sehen, ob eine wirkliche Verringerung bestehe und welcher Ursache die Erscheinung zuzuschreiben sei.

Zu diesem Behuf liefs ich etwa in die Mitte einer Kammer durch ein in eine der Wände gebohrtes Loch eine Glasröhre gelangen, die nach aufsen in direkter Verbindung mit einer — eine Röhre nach Liebig — stand, welche eine Lösung von Jodkalium zu 10% (20 ccm) enthielt; eine Lösung, durch die ich eine bestimmte Menge von Luft aus der Kammer mittels eines Wasseraspirators von bekannter Kapazität passieren liefs.

Diese Lösung hat in Gegenwart des Chlors, wie bekannt, die Eigenschaft, das Jod frei zu machen und deshalb statt farblos gelb zu werden und erfolgt die Zersetzung gemäfs der Formel:

$$Cl_2 + 2\,KJ = 2\,Cl + I_2$$

und setzt genau jeder Atom von Chlor in der Verbindung mit Kalium ein Jod-Atom in Freiheit, so dafs ich aus dem Quantitativum des freien Jods die Chlormenge abzuleiten vermochte, die in jenem gegebenen Luftvolumen enthalten war, welches die

Lösung zu durchqueren hatte. Für die Betitelung des Jods bediente ich mich einer Lösung von $\frac{n}{100}$ von Natriumhyphosulfit, deren jedem Kubikzentimeter 1,265 mg Jod entsprechen, die ihrerseits wieder 0,354 mg Chlor entsprechen.

Als Indikator verwandte ich etliche Tropfen von Kleister.

Die Analyse der Luft wurde in folgender Weise betrieben: Ich führte in eine leere und gut geschlossene Kammer 30 ccm Chlor ein, welche bei Mischung mit der Luft der Kammer eine Verdünnung von 0,003‰ hätten ergeben müssen. Nachdem ich den Ventilator einige Zeit hatte umkreisen lassen, setzte ich den Aufsauger in Betrieb und liefs langsam Luft durch die JK während der ersten 20 Minuten nach der Einführung des Chlors passieren. Darauf unterbrach ich die Operation, um sie in der folgenden Stunde bei Anfang einer weiteren Einführung der gleichen Gasmenge für den gleichen Zeitraum nach vorausgegangener Ventilation derselben Kammer — wie ich dies gemacht haben würde, wenn sich in der Kammer die Versuchstiere befunden hätten — vorzunehmen. Das tat ich 7 mal nacheinander und es gelang mir derart 30 l Luft durch das JK passieren zu lassen. Dann schritt ich zur Titulierung der Lösung vor, aus der sich mir ergab, dafs in der Kammer in den ersten 20 Minuten jeder Stunde durchschnittlich eine Quantität von Chlor gleich 0,0029‰ bestand.

Dieselbe Operation wiederholte ich mit weiteren 20 ccm von JK-Lösung statt für die ersten mit den letzten 20 Minuten jeder Stunde, um zu sehen, ob sich bei einem Vergleiche zwischen den beiden Determinationen wirklich eine Chlorverminderung während des Zeitraumes ergab, in welchem die Kammer geschlossen bleiben mufste. Am Schlusse der Operation stellte ich 0,0027‰ Gas fest. Aus alledem mufste ich schliefsen, dafs die Gasmenge, die in der Kammer verloren ging, wenn diese keine Tiere enthielt, für meine Untersuchungen belanglos war, und dafs die von meinen Sinnen wahrgenommene Verminderung des Chlors in anderen Ursachen zu suchen sei.

Um die Sache, die ja meinen Versuchen von beträchtlicher Unannehmlichkeit hätte werden können, klarzustellen, wiederholte ich die gleichen Experimente, indem ich jedoch 6 Kaninchen und 6 Meerschweinchen in der Kammer hielt. Am Schlusse der Operation fand ich, dafs, während die Chlormenge in der gesammelten Luft für die ersten 20 Minuten jeder Stunde 0,0027‰ betrug, dieselbe in den letzten 20 Minuten auf 0,0015‰ zurückging, so dafs ich zum Schlusse kam, dafs die Verminderung der Chlormenge, die in die Kammer eingeführt war, auf Rechnung der anwesenden Tiere zu stellen sei. Und dafs es die Tiere an sich selbst in der Hauptsache wären, davon überzeugte ich mich beim Lesen einiger Versuche von Lehmann und Kellemann. Dieselben haben gezeigt, dafs ein Hund im Gewichte von 6 kg in einer Atmosphäre, welche 0,3 mg Chlor pro Liter enthält, 24 mg Gas durch die Lungen und 120 mg durch das Fell absorbiert, da sich die Haare unter der verlängerten Einwirkung dieses Alogens in ihrer Beschaffenheit verändern. In der Tat habe auch ich feststellen können, und zwar in den von mir verwendeten Tieren, zumal Kaninchen und Meerschweinchen, dafs die Haare derselben gegen das Ende der Inhalationen ihren Glanz verloren hatten, wollig geworden und von einem gelblichen Fett bedeckt waren, aufserdem beim geringsten Ziehen sich in grofsen Büscheln loslösten und die darunter befindliche Haut gerötet zurückliefsen.

Es mufste also für diese Unzuträglichkeit der beständigen und gradweisen Abnahme der Menge des eingeführten Gases Abhilfe getroffen werden und das erzielte ich zum grofsen Teil, sei es durch Abkürzung der Zeit zwischen einer und der anderen Zufuhr von Chlor, d. h. durch Beschränkung derselben auf eine halbe Stunde und jedesmalige Ventilierung der Kammern gemäfs Gepflogenheit, sei es durch anfängliche Einführung eines kleinen Gasüberschusses, den ich infolge zahlreicher anderer Analysen der Luft der Kammern, während sich die Tiere in denselben befanden, feststellte.

Nachdem ich mich derart, wenn auch in etwas einfacher, jedoch für meine Untersuchungen genügenderweise vor derlei

Irrtümern gesichert hatte, ging ich ohne Verzögern zu den mir gestellten eigentlichen Versuchen über.

Chlorinhalationen von 0,005 ‰.

Ich wählte 40 Tiere unter Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben, und nachdem ich für jedes derselben das Gewicht festgestellt und bei allen die Blutprüfung vom Gesichtspunkte des Hämoglobingehaltes und der Hämativezahl vorgenommen hatte, verteilte ich sie in passender Zahl über die Kammern, in die ich so viel Chlor einführte, dafs sich eine Atmosphäre ergab, die 0,005 ‰ Gas enthielt; eine Atmosphäre, die ich jeden Tag nahezu konstant erhielt, wie ich infolge von verschiedenen quantitativen Analysen der Luft, die ich zu verschiedenen Zeiten während dieser Versuche vornahm, feststellen konnte.

Die Inhalationen wurden täglich einen ganzen Monat hindurch, 5—7 Stunden lang pro Tag und mit einer dreistündigen Ruhepause dazwischen, vorgenommen.

Nach Verlauf des Monats wog ich die Tiere von neuem und nahm auch nochmalige Blutprüfung vor, wobei ich nun auch aufser den Bestimmungen des Hämoglobins mit dem Fleischlschen Hämometer und der Zählung der roten Blutkörperchen mit dem Thomas-Zeifsschen Globulimeter auch etwelche spektroskopische Prüfungen vornahm, nach denen ich mich dann an die übrigen vorhin erwähnten Untersuchungen machte.

Die Tiere und zumal die Kaninchen erwiesen sich während dieser Inhalationsperiode oft aufgeregt und von leichtem Tränen- und Nasenflufs. Nur zwei (ein Meerschweinchen und ein Kaninchen) gingen während dieser Vorbereitungszeit ein, und bei ihrer Autopsie vermochte ich aufser den oben erwähnten Alterationen der Haare eine Färbung der Lungen mit lebhaftem Rot und hier und da etwelchen Flecken von Rotweinfarbe festzustellen.

Tabelle I.

Blutprüfung und Gewicht der Tiere vor und nach den Inhalationen von Chlor (0,005 $^0/_{00}$).

Versuchstiere		Vor den Inhalationen			Nach 30 Tagen d. Inhalationen		
		Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen	1	1345	5 600 000	80	1040	4 150 000	65
»	2	1370	6 900 000	65	1000	5 500 000	60
»	3	1315	6 000 000	70	900	5 700 000	60
»	4	1315	5 900 000	70	850	6 100 000	65
»	5	1810	6 000 000	60	1690	5 300 000	50
»	6	1970	5 600 000	72	1570	5 800 000	65
»	7	1300	5 000 000	60	Tot nach 15 Tg. d. Inhalat.		
»	8	1830	6 200 000	65	1670	4 500 000	55
»	9	1415	6 000 000	75	1230	5 200 000	70
»	10	1620	7 000 000	80	1490	6 000 000	70
»	11	1100	5 300 000	70	950	5 000 000	58
»	12	1320	6 100 000	75	1200	5 400 000	70
»	13	1240	5 800 000	65	1130	5 000 000	65
»	14	1510	6 200 000	70	1420	5 800 000	60
»	15	1330	6 100 000	60	1230	5 100 000	50
Meerschweinchen	1	490	6 400 000	83	500	3 000 000	70
»	2	562	6 300 000	75	550	5 500 000	75
»	3	500	5 400 000	75	430	4 600 000	55
»	4	480	6 300 000	70	480	6 150 000	65
»	5	420	6 000 000	70	370	5 000 000	55
»	6	440	5 200 000	60	400	5 200 000	60
»	7	400	6 900 000	80	360	5 180 000	70
»	8	525	7 000 000	75	465	5 750 000	70
»	9	430	6 000 000	78	335	6 000 000	70
»	10	415	5 700 000	88	400	4 760 000	65
»	11	380	5 500 000	60	350	5 000 000	50
	12	430	6 000 000	70	400	5 400 000	60
	13	375	6 200 000	75	335	5 800 000	65
»	14	460	5 900 000	70	410	5 000 000	60
»	15	325	5 600 000	70	290	4 700 000	50
	16	480	6 000 000	70	470	6 000 000	65
	17	390	5 000 000	60	Tot nach 21 Tg d. Inhalat.		
	18	410	5 700 000	75	400	5 100 000	60
»	19	360	6 100 000	70	340	6 000 000	55
	20	470	6 000 000	80	430	5 200 000	60
»	21	400	6 200 000	70	390	5 000 000	70
	22	380	5 900 000	70	360	5 100 000	50
»	23	330	6 400 000	60	320	6 000 000	60
»	24	470	5 700 000	75	420	5 200 000	70
	25	425	6 000 000	70	400	5 000 000	60
»	26	340	6 100 000	75	330	5 200 000	55
»	27	430	5 800 000	75	400	4 500 000	60
Taube	1	480	4 000 000		470	4 100 000	—
»	2	510	4 600 000	—	490	4 000 000	—

Aus der Prüfung der Tabelle springt vor allem die beständige Gewichtsverminderung in die Augen, die alle Tiere mit Ausnahme des Meerschweinchens Nr. 1 erlitten, welch letzteres die geringe Gewichtszunahme von 10 g erfuhr; und dieselbe ist um der Tatsache willen besonderer Beachtung würdig, daſs ich zu meinen Versuchen lauter verhältnismäſsig junge und also noch in der Entwicklung befindliche Tiere verwandte. Diese Verminderung variierte für die Kaninchen zwischen einem Maximum von 465 g (Kaninchen Nr. 4) und einem Minimum von 90 g (Kaninchen Nr. 14) und für die Meerschweinchen zwischen einem Maximum von 95 g (Meerschweinchen Nr. 9) und einem Minimum von 10 g (Meerschweinchen Nr. 18, 21, 25), Abnahmen, die sicherlich beachtenswert sind, wenn man das verhältnismäſsig geringe Gesamtgewicht der Versuchstiere erwägt.

Was die Zahl der roten Blutkörperchen und den Hämoglobingehalt angeht, so kann man in Anbetracht der bedeutenden Anzahl der zum Versuche herangezogenen Tiere mit Sicherheit den Schluſs ziehen, daſs sich eine Abnahme sowohl in der Zahl der Hämative wie in der Menge des Hämoglobins ergab.

Deshalb läſst sich erklären, *daſs die Tiere, die längere Zeit in einer Chlor-Atmosphäre (0,005 ‰) geatmet haben, eine Abnahme des Gewichts und der Zahl der roten Blutkörperchen wie auch des Hämoglobingehaltes aufweisen.*

Die spektroskopische Prüfung des Blutes brachte nichts Anormales zur Geltung, immer die bekannten Aufsaugungszeichen des Hämoglobins ergebend.

Umwandlungen des agglutinierenden Vermögens des Blutserums der für den Typhus immunisierten Tiere.

Zu dieser Untersuchung bediente ich mich vier Kaninchen, die zugleich mit vier Kontrolltieren präpariert waren, indem ich ihnen mit der zu Anfang beschriebenen Technik bei der ersten Inokulation 0,5 ccm und bei der zweiten 0,8 ccm des Typhustoxins per je 100 g des Tiergewichts inokulierte.

Tabelle II.

Tiere, die 30 Tage lang Chlor einatmeten (0,005 ‰)					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in g	Inokulation v. Toxin 0,5 ccm pro 100 g	Inokulation v. Toxin 0,8 ccm pro 100 g	Agglutinier. Wert d. Serums	Versuchstiere	Gewicht in g	Inokulation v. Toxin 0,5 ccm pro 100 g	Inokulation v. Toxin 0,8 ccm pro 100 g	Agglutinier. Wert d. Serums
Kaninchen 1	1040	5	8	1:350	Kaninch. 1 bis	1100	5,5	8,5	1:900
» 2	1000	5	8	1:400	» 2 »	1000	5	8	1:800
» 3	900	4,5	7,5	1:200	» 3 »	1060	5	8	1:1000
» 4	850	4	7	1:500	» 4 »	980	5	7,5	1:550

Wenn man den Durchschnitt der agglutinierenden Werte, wie sie laut Tabelle II sich ergeben, feststellt, wird klar, dafs während derselbe bei den Tieren, welche Chlor einatmeten (0,005‰) nur 1 : 362 beträgt, sich bei den Kontrolltieren ein solcher von 1 : 812 ergibt; man kann somit behaupten, dafs derartige Einatmungen einen bedeutsamen Einflufs auf die Hervorbringung von agglutinierender Substanz für den Typhus-B. ausüben, einen Einflufs, der sich in einer Verminderung der Agglutinin-Produktion von Seiten jener Tiere äufsert, welche solche Inhalationen erleiden mufsten, und dies zwar im Vergleich zu ebensovielen Kontrolltieren.

Umwandlungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums der gegen die Typhusinfektion immunisierten Tiere.

In der angegebenen Weise wurden gegen den Typhus sechs Meerschweinchen, die zugleich mit ebensovielen Kontrolltieren vorbereitet wurden, immunisiert und zwar alle von fast gleichem Gewicht.

Dreizehn Tage nach der zum Zwecke der Immunisierung vorgenommenen Inokulation der Typhuskultur (während welcher Zeit die präparierten Meerschweinchen jeden Tag Gas einzuatmen bekamen) wurde ihnen Blut entzogen und nach Abscheidung des Serums ward der immunisierende Wert desselben festgestellt,

wobei stets Typhus-Virus von doppelter tödlicher Dosis Verwendung fand.

Tabelle III.

Tiere, welche 30 Tage hindurch Chlor (0,005 ‰) einatmeten		Kontrolltiere	
Versuchstier	Serum-Titel (ccm)	Versuchstier	Serum-Titel (ccm)
Meerschw. Nr. 1	0,10	Meerschw. Nr. 1 bis	0,05
» » 2	0,20	» » 2 »	0,20
» » 3	ich vermochte keine Feststellung zu treffen	» » 3 »	0,10
» » 4	0,10	» » 4 »	0,05
» » 5	tot am 4. Tage	» » 5 »	0,05
» » 6	0,20	» » 6 »	0,10

Bei Vergleich der obigen Daten ergibt sich, dafs das Blutserum der der Inhalation von Chlor (0,005 ‰) unterzogenen Meerschweinchen einen im Durchschnitt geringeren immunisierenden Wert (0,15) als das Serum der Kontrolltiere (0,09) besitzt, weshalb sich auch bei den präparierten Tieren eine Herabsetzung in der Produktion der Antikörperchen des Typhus ergab.

Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Bei Anstellung dieser Untersuchung ist mir ein Zweifel aufgestiegen, ob das Chlor an und für sich in der von mir verwendeten Konzentrierung und bei längerer Betätigung eine direkte schädliche Aktion auf den B. prodigiosus, welchen ich für diese Experimente gewählt, auszuüben vermöge; wenn dies der Fall wäre, würde ich von richtiger Bewertung des bakteriziden Vermögens der Lungen auf die in diese eingedrungenen Keime abgelenkt worden sein. Um mir hierüber Klarheit zu verschaffen, exponierte ich in den Kammern, während die Tiere das Gas in den angegebenen Proportionen einatmeten, Seidenfäden, die mit B. prodig. getränkt waren und zwar einige trocken, andere feucht, um mich zu vergewissern, ob das Chlor in feuchter Umgebung eine energischere Aktion zu entfalten vermöchte; nachdem Plättchen mit besagten Fäden auch 100 Stunden nach ihrer Aus-

setzung in der Chlor-Atmosphäre (0,005‰) gemacht worden waren, probierte ich nicht weiter, da sich immer üppige Entwicklung des B. prodig. mit seinem charakteristischen Pigment ergab. Derart zur Überzeugung gelangt, dafs das Gas in der von mir angewendeten Konzentrierung keinerlei schädliche Wirkung auf den B. prod. ausübte, leitete ich ohne weitere Beunruhigung meine Experimente ein.

Neun Meerschweinchen, die der Chlorinhalation unterzogen wurden und andere neun Kontrolltiere wurden in das Zerstäubungskistchen eingeführt, um mit der Luft den B. prodig. durch 20′ einzuatmen.

Darauf wurde eines der Kontrolltierchen sofort getötet, um annähernd die Zahl der von den Meerschweinchen pro ccm Lunge eingeatmeten Keime festzustellen. Die vorbereiteten Meerschweinchen wurden auch nach dem Lungen-Innest in die Inhalationskammern zurückgebracht und die Kontrolltierchen im Stalle gehalten.

Alle 12 Stunden wurden ein oder zwei Meerschweinchen pro Gruppe geopfert und mit der schon beschriebenen Technik schritt ich zur quantitativen Feststellung des in den Lungen enthaltenen B. prodig.

Die Tabelle IV (S. 310) fafst die Ergebnisse zusammen und erweist in der letzten Rubrik die Totalsumme der gefundenen und auf 1 ccm Lunge berechneten Kolonien.

Aus den in der Tabelle vorgeführten Zahlen erweist sich offenkundig eine Abnahme des Verteidigungsvermögens der Lungen auf seiten jener Tiere, welche Chlor einatmeten; denn in diesen hielt sich die Zahl der B. prodig. pro ccm Lunge immer auf höherer Stufe als bei den Kontrolltieren. Tatsächlich fand sich bei den Kontrolltieren 48 Stunden nach erfolgtem Innest keine Spur von B. prodig. in den Lungen, während sich in jenen, welche Chlor einatmeten, der B. prodig. auch nach 96 Stunden noch vorfand.

Tabelle IV.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge		bei ½ recht unt. Lappen		Basis linker Lunge		Gesamtzahl der Kolonien des B. prodigiosus auf 1 ccm Lungen berechnet
		Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl d. festgestellten Kol. von B. prodig.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl d. festgestellten Kol. von B. prodig.	Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl d. festgestellten Kol. von B. prodig.	
Tiere, welche Chlor einatmeten (0,005 ‰)								
Meerschw. Nr. 7	Stunden 12	0,2	82	0,4	460	0,4	375	917
» » 8	» 24	0,2	18	0,5	36	0,2	31	94
» » 9	» 24	0,1	12	0,4	27	0,4	40	87
» » 10	» 36	0,2	17	0,3	24	0,3	14	68
» » 11	» 48	0,2	3	0,4	18	0,3	25	51
» » 12	» 60	0,2	4	0,4	21	0,2	5	37
» » 13	» 60	0,1	2	0,5	30	0,3	8	44
» » 14	» 72	0,2	0	0,5	4	0,3	2	6
» » 15	» 96	0,3	0	0,4	0	0,3	4	4
Kontrolltiere								
Meerschw. Nr. 7 bis	sofort nach der Einatmung	0,1	60	0,2	450	0,3	525	1725
» » 8 »	Stunden 12	0,2	42	0,4	75	0,4	89	206
» » 9 »	» 24	0,1	6	0,3	9	0,2	12	45
» » 10 »	» 24	0,2	8	0,4	7	0,3	14	33
» » 11 »	» 36	0,2	8	0,5	9	0,2	12	43
» » 12 »	» 48	0,2	0	0,4	4	0,4	0	4
» » 13 »	» 60	0,2	0	0,3	0	0,3	0	0
» » 14 »	» 72	0,1	0	0,5	0	0,2	0	0
» » 15 »	» 96	0,2	0	0,2	0	0,4	0	0

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulentem Virus.

Auch bei diesen Versuchen werden, wie bei allen folgenden, die präparierten Tiere nach der Inokulation des Virus die übliche Zeit hindurch angehalten, täglich in den Kammern Chlor einzuatmen.

Hämatischer Milzbrand.

Die Inokulationen wurden unter der Haut der inneren Seite des Schenkels in Menge eines Schälchens von Agarkulturpatina bei den Kaninchen und eines halben bei den Meerschweinchen gemacht.

Tiere, welche Chlor einatmeten 0,005 °/₀₀.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 5 — stirbt nach 72 Std.	Kaninchen Nr. 5 bis — stirbt nach 110 Stunden
» » 6 » » 58 »	Kaninchen Nr. 6 bis — stirbt nach 96 Stunden
Meerschw. » 16 » » 39 »	Meerschweinchen Nr. 11 bis — stirbt nach 58 Stunden
» » 17 » » 46 »	Meerschweinchen Nr. 17 bis — stirbt nach 56 Stunden.

Diplokokkus von Fränkel.

Die Tiere wurden unter der Haut des Rückens mit 1 ccm Bouillonkultur von 8 Tagen, die dem Blute eines an Diplokokkeninfektion verendeten Kaninchens entstammte, inokuliert.

Kaninchen Nr. 8 stirbt nach 18 Std.	Kaninchen Nr. 8 bis — stirbt n. 40 Std.
» » 9 » » 32 »	» » 9 » — » » 54 »

Typhus.

Die Tiere wurden mit 1/2 ccm Bouillonkultur von 24 Stunden Typhusbestand inokuliert.

Meerschweinchen Nr. 18 — stirbt nach 25 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 18 bis — stirbt nach 37 Stunden.
Meerschweinchen Nr. 19 — stirbt nach 26 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 19 bis — stirbt nach 30 Stunden.
Meerschweinchen Nr. 20 — stirbt nach 20 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 20 bis — stirbt nach 42 Stunden.

Tuberkulose (Lungen-Innest).

Die Meerschweinchen inhalierten in dem Verstäubungskistchen eine Stunde lang Lykopodiumpulver, vermischt und getrocknet zugleich mit an Tuberkelbazillen reichem Sputum.

Tiere, welche Chlor inhalierten (0,005 °/₀₀).	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 22 — starb nach 58 Tagen an allgemeiner Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 22 bis — starb nach 90 Tagen — allgemeine Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 23 — starb nach 65 Tagen an allgemeiner Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 23 bis — getötet nach 92 Tagen — allgemeine Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 24 — starb während der Inhalation an Erstickung.	Meerschweinchen Nr. 24 bis — getötet nach 92 Tagen — Lungentuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 25 — starb nach 60 Tagen an allgemeiner Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 25 bis — getötet nach 92 Tagen — Lungentuberkulose.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächtem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Die 18 Tage lang bei 42° C gehaltenen Milzbrandkulturen waren in der Menge eines Schälchens nicht mehr imstande, das Kaninchen zu töten, wohingegen eine doppelte Menge (2 Schälchen) den Tod des Tierchens in 150 Stunden herbeiführten. Die unten angegebenen Tiere wurden mit nur einem Schälchen inokuliert.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,005 ‰).	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 10 — nach 48 Stunden frifst das Tier nicht mehr, es hockt mit halbgeschlossenen Augen in einem Winkel des Käfigs; gegen den vierten Tag erholt es sich.	Kaninchen Nr. 10 bis — bietet keinerlei Symptomatologie dar.
Kaninchen Nr. 11 — stirbt nach 160 Stunden.	Kaninchen Nr. 11 bis — wie oben.
Kaninchen Nr. 12 — überlebt den Versuch ohne offenkundige Störungen.	Kaninchen Nr. 12 bis — wie oben.

Diplokokkus von Fränkel.

Die tödliche Minimaldosis der Bouillonkultur, die ich zu meiner Verfügung hatte, betrug für ein Kaninchen mittlerer Gröfse 1 ½ ccm. Die Tiere wurden mit 1 ccm Kultur inokuliert.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,005 ‰).	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 13 — stirbt nach 95 Stunden.	Kaninchen Nr. 13 bis — bot keinerlei Symptome dar.
Kaninchen Nr. 14 — stirbt nach 80 Stunden.	Kaninchen Nr. 14 bis — bot keinerlei Symptome dar.
Kaninchen Nr. 15 — zeigt 1 Tag lang einen Agonie ähnlichen Zustand, dann erholt es sich wieder.	Kaninchen Nr. 15 bis — bot keinerlei Symptome dar.

Typhus.

Die tödliche Minimaldosis der Typhuskulturen in Bouillon, welche ich gebrauchte, betrug für die Meerschweinchen 1 ccm. Die in Versuch gestellten Meerschweinchen wurden mit ½ ccm Bouillonkultur inokuliert.

Tiere, welche Chlor inhalierten (0,005 ‰).	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 26 — keine merkbaren Symptome.	Meerschweinchen Nr. 26 bis — keine merkbaren Symptome.
Meerschweinchen Nr. 27 — überlebt den Versuch, weist jedoch einige Störungen auf.	Meerschweinchen Nr. 27 bis — wie oben.

Verhalten der infolge der Inokulation von virulentem Virus immunen Tiere.

Hämatischer Milzbrand.

Die Tiere wurden mit einer für die Kaninchen doppelt tödlichen Dosis (2 Schälchen Agarkultur von 24 Stunden) inokuliert.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,005 ‰).	Kontrolltiere.
Taube Nr. 1 — zwölf Stunden nach der Inokulation bietet sie herabhängende Flügel, struppige Federn dar und wird häufig von Zittern befallen; am Ende des zweiten Tages verschwinden diese Symptome und das Tier erholt sich.	Taube Nr. 1 bis — keinerlei merkbare Symptome.
Taube Nr. 2 — wie oben.	Taube Nr. 2 bis — keinerlei Symptome

Aus all diesen drei Untersuchungsreihen ergibt sich: dafs unter den rezeptiven und mit virulenten Keimen in mehr als tödlicher Dosis (hämatischer Milzbrand, Pneumokokkus, Typhus, Tuberkulose) inokulierten Tieren diejenigen schneller erliegen, welche den Chlorinhalationen (0,005 ‰) unterworfen wurden als jene, die solche Inhalationen nicht zu erleiden hatten, und ferner: dafs die Inokulationen abgeschwächter Keime (hämatischer Milzbrand, Fränkelscher Diplokokkus) keinerlei Störungen in den Kontrolltieren hervorbringen, während sie Krankheit und auch Tod jenen Tieren bringen, welche die oben erwähnten Inhalationen erlitten. Schliefslich, dafs die gegen den hämatischen Milzbrand immunen Tiere, die eine verhältnismäfsig lange Zeit hindurch in der Atmosphäre gelebt haben, welche Chlor in der Menge von 0,005 ‰ enthielt, infolge der Inokulation der Keime dieser Krankheit derartige Störungen erleiden, dafs sie in Lebensgefahr kamen.

Und indem wir nun die Ergebnisse der einzelnen Versuche zusammenfassen, können wir sagen, dafs die verlängerten Einatmungen von Chlor in der Dosis von 0,005 pro

Mille, wenn sie schon keine bemerkenswerten anatomisch-pathologischen Veränderungen der Organe ergeben, die sich mit den gewöhnlichen Forschungsmethoden feststellen lassen, wie dies auch von jenen bestätigt wird, die sich mit dem Gegenstande befafsten, immerhin mit der Zeit im Organismus der Tiere, mit denen ich zu experimentieren hatte, Alterationen sowohl in der Ernährung als auch in der Blutzusammensetzung wie ferner und vor allen Dingen in allen jenen Verteidigungskräften hervorbringen, über die der Organismus im Kampfe gegen die Infektionskrankheiten verfügt. Tatsächlich haben wir sowohl eine Abnahme in der Produktion von spezifischen Antikörpern, als ein Nachlassen des bakteriziden Vermögens der Lungen und einen verminderten Widerstand gegenüber dem hämatischen Milzbrand, dem Fränkelschen Diplokokkus, dem Typhus und der Tuberkulose angetroffen und eine Rezeptivität gegenüber der Infektion von seiten der immunen Tiere.[1])

Inhalationen von Chlor zu 0,002 ‰.

Nachdem festgestellt ward, dafs das der Luft im Verhältnis von 0,005 pro Mille beigemischte Chlor infolge seiner längeren Inhalation bei den obengenannten Tieren eine Herabsetzung des Verteidigungsvermögens des Organismus gegen die Infektionskrankheiten herbeiführt, wollte ich in gewissen Grenzen nachforschen, welches die Maximalquantität von Chlor wäre, die, der Luft beigemischt, derartige Störungen nicht hervorzubringen vermöchte, überzeugt, dabei doch zu einigen nützlichen Daten zu gelangen.

Ich wiederholte deshalb alle vorgenannten Versuche mit einer geringeren Chlormenge und zwar mit 0,002 ‰, bereit, auch noch weitere mit geringeren Dosen zu unternehmen, bis es mir gelungen wäre, die vorerwähnte harmlose Maximaldosis anzutreffen.

1) Die Todesursache jedes Tieres wurde stets mittels Autopsie, mit mikroskopischer Prüfung, und wenn nötig auch mittels Kulturen festgestellt.

Tabelle V.

Blutprüfung und Gewicht der Tiere vor und nach den Inhalationen von Chlor (0,002 ‰).

Versuchstiere	Vor den Inhalationen			Nach 30 Tagen der Inhalationen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	1200	5 700 000	70	1180	5 000 000	65
» 2	1350	6 000 000	70	1295	6 000 000	75
» 3	1180	6 200 000	75	1100	5 900 000	70
» 4	1230	5 200 000	65	1200	5 300 000	70
» 5	1640	5 800 000	70	1650	5 000 000	70
» 6	1530	7 000 000	65	1500	6 000 000	65
» 7	1090	6 800 000	70	1130	6 500 000	65
» 8	1620	5 600 000	60	1540	5 100 000	60
» 9	1250	4 900 000	65	1360	5 000 000	65
» 10	1465	6 500 000	80	1395	6 000 000	70
» 11	1320	6 200 000	70	1300	6 000 000	70
» 12	1220	6 100 000	75	1230	5 900 000	75
Meerschw. 1	400	6 800 000	80	420	6 100 000	70
» 2	475	7 100 000	75	460	7 000 000	70
» 3	510	6 200 000	75	500	6 000 000	75
» 4	395	6 800 000	70	410	6 600 000	75
» 5	490	6 100 000	70	460	6 200 000	60
» 6	525	5 700 000	60	500	5 400 000	70
» 7	380	6 500 000	60	395	7 000 000	75
» 8	450	6 000 000	75	450	6 500 000	70
» 9	525	7 000 000	75	500	6 400 000	70
» 10	410	6 700 000	60	390	5 700 000	65
» 11	480	5 000 000	70	460	6 100 000	60
» 12	360	4 500 000	65	380	5 000 000	60
» 13	450	6 700 000	70	430	6 000 000	70
» 14	495	7 000 000	75	460	6 500 000	70
» 15	475	6 100 000	70	470	6 200 000	70
» 16	560	6 300 000	65	555	6 500 000	70
» 17	430	5 900 000	60	410	6 000 000	60
» 18	360	6 000 000	60	tot, ohne Grund scheinbar		
» 19	410	6 800 000	75	420	6 100 000	70
Taube 1	500	4 800 000	—	510	5 000 000	—
» 2	440	3 500 000	—	410	3 600 000	—
» 3	480	5 000 000	—	490	4 700 000	—

Aus dem Studium der Tabelle ergeben sich Tatsachen, die einigermaſsen verschieden sind von denen, die in der vorausgegangenen angetroffen wurden. Infolge der Inhalation von 0,002 pro Mille an Chlor erweist sich die Gewichtsabnahme der Tiere weniger markiert als infolge der Inhalation von 0,005 pro Mille; dieselbe erreicht bei den Kaninchen ein Maximum von 80 g (Kaninchen Nr. 3 und 8) und für die Meerschweinchen ein solches von 35 g (Meerschweinchen Nr. 4), wobei zu bemerken ist, daſs sich für verschiedene Tiere auch eine Gewichtsvermehrung ergab (Kaninchen Nr. 5, 7, 9, 12 und Meerschweinchen Nr. 1, 4, 7, 12), die bei den Kaninchen ein Maximum von 110 g und für die Meerschweinchen ein solches von 20 g erreichte.

Was die Zahl der roten Blutkörperchen und den Hämoglobingehalt angeht, so besteht im allgemeinen eine leichte Abnahme nach der Gasinhalation, obschon sich auch sprungweise hier und da Zunahme ergab; deshalb darf ich schlieſsen, daſs die verlängerte Einatmung von Chlor im Verhältnis von 0,002 pro Mille nicht in allen zum Versuch herangezogenen Tieren bemerkenswerte Störungen, sei es in der Ernährung wie in der Blutzusammensetzung, hervorruft, sondern daſs nur in etlichen derselben derartige Störungen sich ergaben und zwar immer in ganz leichtem Grade.

Veränderungen beim agglutinierenden Vermögen des Blutserums von gegen den Typhus immunisierten Tieren.

Tabelle VI.

Tiere, welche die Chlorinhalationen erlitten (0,002 ‰)					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in g	Inokulation v. Toxin 0,5 ccm pro je 100 g	Inokulation v. Toxin 0,8 ccm pro je 100 g	agglutinierende der Wert des Serums	Versuchstiere	Gewicht in g	Inokulation v. Toxin 0,5 ccm pro je 100 g	Inokulation v. Toxin 0,8 ccm pro je 100 g	agglutinierende der Wert des Serums
Kaninchen 1	1180	5,5	9	1 : 800	Kaninch. 1bis	1040	5	8	1 : 1300
› 2	1295	6,5	9,5	1 : 1000	› 2 ›	1210	6	9,5	1 : 500
› 3	1100	5,5	9	1 : 600	› 3 ›	1095	5,5	9	1 : 900
› 4	1200	6	9,5	1 : 900	› 4 ›	1120	5,5	9	1 : 800

Aus dem Mittel der agglutinierenden Werte ergibt sich für die der Chlorinhalation unterzogenen Tiere der Wert von 1 : 825 und für die Kontrolltiere jener von 1 : 875, Unterschiede, die so gering sind, dafs sie mir nicht erlauben, zu bestätigen, dafs das Chlor an und für sich in den diesmal verwendeten Proportionen auf die Produktion der Agglutinine von seiten der Tiere, welche das Gas einzuatmen hatten, Einflufs habe nehmen können.

Veränderungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums von gegen den Typhus immunisierten Tieren.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,002 ‰).			Kontrolltiere.		
Versuchstiere		Serumtitel	Versuchstiere		Serumtitel
Meerschweinchen	Nr. 1 . . .	0,10	Meerschweinchen	Nr. 1 bis . .	0,10
»	Nr. 2 . . .	0,10	»	Nr. 2 bis . .	0,05
»	Nr. 3 . . .	0,10	»	Nr. 3 bis . .	0,05
»	Nr. 4 . . .	0,05	»	Nr. 4 bis . .	0,10
»	Nr. 5 . . .	0,10	»	Nr. 5 bis . .	0,10

Auch aus den Ergebnissen dieser Untersuchung glaube ich, zumal es sich doch, wie ich schon anderswo sagte, hier nicht um eine exakte chemische Reaktion, sondern um ein biologisches Phänomen umfänglichster Art handelt, nicht die Autorisation schöpfen zu können zur absoluten Behauptung, dafs die Tiere, welche das Chlor einatmeten, eine geringere Menge von Antikörpern geliefert hätten um der alleinigen Differenz willen, die ich im Meerschweinchen Nr. 3 antraf, da sich ja die anderen Daten kompensieren; deshalb kann man in Erwägung dieser Ungewifsheiten sagen, dafs sich fast gar kein Unterschied in der Produktion von bakteriziden Substanzen zwischen den Tieren, welche Chlor in den Proportionen von 0,002 ‰ einatmeten und den Kontrolltieren ergab.

Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Tabelle VII.

Versuchstiere	Die zwischen der Einatmung des B. prod. und der Suche n. demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenstücke: Apixe rechte Lunge — Geprüftes Volumen in ccm	Zahl der berechneten Kolonien von B. prodig.	Beim 1/3 recht. unt. Lappen — Geprüftes Volumen in ccm	Zahl der berechneten Kolonien von B. prodig.	Basis der linken Lunge — Geprüftes Volumen in ccm	Zahl der berechneten Kolonien von B. prodig.	Gesamtzahl der Kolonien des B. prodig. auf 1 ccm Lunge berechnet
Tiere, welche Chlor zu 0,002‰ einatmeten.								
Meerschweinchen Nr. 6	12 Stunden	0,2	28	0,4	139	0,4	120	287
» » 7	24 »	0,1½	10	0,5	40	0,2½	35	94
» » 8	48 »	0,2	0	0,3	12	0,3	8	25
» » 9	60 »	0,3	0	0,4	0	0,4	0	0
» » 10	72 »	0,1	0	0,5	0	0,3½	0	0
Kontrolltiere.								
Meerschw. Nr. 6 bis	sofort nach d. Einatmung	0,1	500	0,2	3670	0,2	2925	12190
» » 7 »	12 Stunden	0,2	45	0,2	86	0,1	40	342
» » 8 »	24 »	0,2	16	0,3	15	0,4	27	64
» » 9 »	48 »	0,1	0	0,4	0	0,3	0	0
» » 10 »	60 »	0,2	0	0,3	0	0,3½	0	0

Auch für diese Untersuchung ergeben sich fast gleiche Schlüsse wie vorhin und zwar: d a f s f a s t k e i n e r l e i U n t e r s c h i e d i n b e z u g a u f d a s b a k t e r i z i d e V e r m ö g e n d e r L u n g e n j e n e r M e e r s c h w e i n c h e n, w e l c h e 0,002‰ C h l o r e i n a t m e t e n i m V e r g l e i c h z u d e n K o n t r o l l t i e r e n s i c h e r g a b.

Die alleinige Anwesenheit von 25 Keimen pro ccm Lunge 48 Stunden nach erfolgter Einatmung des B. prodigiosus in jenen Meerschweinchen, welche die Chloreinatmungen erlitten, erlaubt auch hier noch nicht die Behauptung, dafs ein derartiges Vermögen wirklich abgeschwächt sei und zwar vom Augenblick an, dafs nach nur 12 Stunden eine gröfsere Anzahl Keime in den Kontrolltieren sich vorfand und nach 60 Stunden der B. prodig. aus beiden Tiergruppen verschwunden war.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulentem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Die Tiere wurden unter der Haut der Innenfläche der Schenkel mit einem Schälchen virulenter Kulturpatina von Milzbrand in Agar inokuliert.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,002 °/₀₀).	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 5 — stirbt nach 91 Stunden.	Kaninchen Nr. 5 bis — stirbt nach 100 Stunden.
Kaninchen Nr. 6 — stirbt nach 110 Stunden.	Kaninchen Nr. 6 bis — stirbt nach 90 Stunden.

Fränkelscher Diplokokkus.

Die Tiere wurden mit 1 ccm Bouillonkultur von 4 Tagen inokuliert, die dem Blute eines Kaninchens entstammte, welches infolge der Inokulation von pneumonischem Sputum verendet war.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,002 °/₀₀).	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 7 — stirbt nach 20 Stunden.	Kaninchen Nr. 7 bis — stirbt nach 22 Stunden.
Kaninchen Nr. 8 — stirbt nach 31 Stunden.	Kaninchen Nr. 8 bis — stirbt nach 28 Stunden.

Typhus.

Die Meerschweinchen wurden mit $^1/_2$ ccm von virulenter Typhuskultur in Bouillon inokuliert.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,002 °/₀₀).	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 11 — stirbt nach 30 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 11 bis — stirbt nach 39 Stunden.
Meerschweinchen Nr. 12 — stirbt nach 32 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 12 bis — stirbt nach 31 Stunden.

Tuberkulose (Lungen-Innest).

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,002 °/₀₀).	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 13 — stirbt nach 70 Tagen — diffuse Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 13 bis — getötet nach 72 Tagen — gesund.
Meerschweinchen Nr. 14 — getötet nach 72 Tagen — Lungen- und Milztuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 14 bis — getötet nach 72 Tagen — diffuse Tuberkulose.

Meerschweinchen Nr. 15 — getötet nach 72 Tagen — Lungentuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 15 bis — getötet nach 72 Tagen — Lungentuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 16 — getötet nach 72 Tagen — Lungentuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 16 bis — getötet nach 72 Tagen — Lungentuberkulose.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächtem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Die Milzbrandkulturen wurden bei 42° C erhalten, bis ein Schälchen derselben, subkutan inokuliert, nicht mehr imstande war, das Kaninchen zu töten; mit dieser Quantität wurden die Versuchstiere inokuliert.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,002 ‰).	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 9 — keinerlei merkbare Symptome.	Kaninchen Nr. 9 bis — keinerlei merkbare Symptome.
Kaninchen Nr. 10 — keinerlei merkbare Symptome.	Kaninchen Nr. 10 bis — keinerlei merkbare Symptome.

Fränkelscher Diplokokkus.

Diesen Tieren wurde ½ ccm Bouillonkultur von 10 Tagen inokuliert. Die tödliche Minimaldosis betrug für das Kaninchen 1 ccm.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,002 ‰).	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 11 — keinerlei Symptome.	Kaninchen Nr. 11 bis — keinerlei Symptome.
Kaninchen Nr. 12 — keinerlei Symptome.	Kaninchen Nr. 12 bis — keinerlei Symptome.

Verhalten der immunen Tiere gegenüber der Inokulation von virulentem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Diese Tiere wurden mit 2 Schälchen virulenter Agar-Kultur inokuliert.

Tiere, welche Chlor einatmeten (0,002 ‰).	Kontrolltiere.
Taube Nr. 1 — keinerlei Symptome	Taube Nr. 1 bis — keinerlei Symptome.
» » 2 — » »	» » 2 » — » »

Aus diesen drei Untersuchungsgruppen darf man schliefsen, dafs sich keinerlei Widerstandsverminderung weder von seiten der Kaninchen noch von derjenigen der

Meerschweinchen, die das Gas einatmeten, infolge der Inokulation von Virus, seien dies nun virulente oder abgeschwächte im Vergleich zu den respektiven Kontrolltieren, bemerkbar machte, noch dafs die immunen Tiere irgend etwas durch den Innest von selbst stark virulentem Virus zu leiden hatten.

Dergestalt an das Ende auch dieser Versuchsreihe gelangt, kann ich schliefsen: dafs die der Luft im Verhältnis von 0,002‰ beigemischte Chlormenge das Quantitäts-Maximum von Chlor ist, welches in den von mir zum Versuch herbeigezogenen Tieren keinerlei schädlichen Einflufs auf die verschiedenen Verteidigungskräfte ausübt, über welche der Organismus im Kampfe gegen die Entwicklung der Infektionskrankheiten verfügt.

Dafs diese Menge die maximale sei, beweisen uns einige geringfügige Unterschiede in minus, die bei den Versuchstieren im Gegensatz zu den Kontrolltieren angetroffen wurden und zumal bei den ersten Untersuchungen, da, wenn auch solche Unterschiede nicht zur Bildung eines Urteils in sorgliche Erwägung gezogen werden können, immerhin in ihnen die Andeutung liegt, dafs vielleicht eine nur um Weniges höhere Dosis Chlor genügt hätte, dieselben derart zu verschärfen, dafs sie nicht mehr hätten vernachlässigt werden können.

Einatmungen von schwefliger Säure.

Die schweflige Säure ist ein andres unter den reizenden Gasen, welche ausgiebig in einigen Industrien zur Geltung kommen und so ganz besonders bei der in Italien so verbreiteten Gewinnung und Verarbeitung des Schwefels.

Aus den Schriften Colajannis, Calcaras und Giardinas kann man sich eine genügend klare Idee über die zahlreichen schädlichen Ursachen machen, welche stündlich das Leben der armseligen Schwefelarbeiter untergraben und unter denen die verlängerte Einatmung der schwefligen Säure, die sich sowohl

in den Bergwerken durch die langsame Oxydation des vom Bergwerksarbeiter nach und nach mit der Luft in Berührung gebrachten Minerals wie auch aufserhalb während der Rötung und Raffinierung des Rohschwefels entwickelt, gewifs nicht am letzten Platze steht.

Und man darf nicht glauben, dafs sich dieses Gas nur in der Nähe der Öfen entwickele: es verbreitet sich selbst in beträchtliche Entfernungen, Pflanzen zerstörend und in die Häuser dringend, die über das flache Land verstreut sind, und unter gegebenen Verhältnissen seine schädliche Wirkung auch auf die Bewohner derselben erstreckend.

Wie ich schon sagte, entwickelt sich dieses Gas auch noch in vielen anderen Industrien, wie z. B. in den Bleikammern für die heute so verbreitete Fabrikation der Schwefelsäure, in der Herstellung des Ultramarinblau, bei der Extraktion des Goldes und des Silbers und schliefslich wird dieses Gas direkt eigens entwickelt fürs Bleichen der Strohhüte, zumal bei uns in der Toskana, fürs Bleichen der Seiden, der Wollen, der Violinsaiten, der Federn, der Schwämme, der Gerste, für die Konservierung einiger Nährsubstanzen, für die Schwefelung des Hopfens, in einigen Zuckerfabriken, dann in solchen von Zellulose, ferner von Sulfiten etc.

Deshalb ist also leider auch die Verwendung der schwefligen Säure ausgedehnt und während auch für diese die Studien bezüglich der Symptomatologie und des Verlaufes der Vergiftungen und der anatomisch-pathologischen, zumal makroskopischen Alterationen der verschiedenen tierischen Organe und Gewebe verhältnismäfsig zahlreich sind, insonderheit durch die Arbeiten von Eulenberg, Layet, Böhm, Hirt, Ogata und Lehmann, ward der Einflufs, den die verlängerte Einatmung von anscheinend nicht schädlichen Mengen auf die Entwicklung von Infektionen ausüben kann, fast gar nicht studiert. Es ist — und zwar immer vom Gesichtspunkte der direkten Läsionen der Organe — versucht worden, festzustellen, in welcher Verdünnung dieses Gas dem Menschen oder den Tieren zu schaden vermöge. Hirt hat gefunden, dafs die Luft, welche von 1 bis 3% SO_2 enthält,

ohne Schaden von den Arbeitern eingeatmet zu werden vermag und dafs erst 4 bis 6% infolge verlängerten Einwirkens etliche Störungen hervorrufen können.

Ogata hat sich nicht gleicher Meinung gezeigt, er hat hervorgehoben, dafs die Dosis von 0,4‰, die zugleich mit der Luft von etlichen Laboratoriumstieren durch 4 Stunden eingeatmet wird, bereits fähig war, einige Störungen hervorzubringen und dafs bei 1‰ alle Tiere in kürzester Zeit eingingen. Lehmann, welcher die Wirkung der schwefligen Säure auf den Menschen studierte, hält an der Meinung fest, dafs die Dosen des 0,03—0,04‰ dem nicht daran gewöhnten Menschen reichliches Mifsbehagen bringen, und dafs das Verweilen in einer derartigen Atmosphäre nicht frei von Schädigungen ist, obschon für dieses Gas eine gewisse Anpassungsfähigkeit besteht.

Endlich fand Kifskalt, der einzige, der dieses Gas vom Gesichtspunkte seiner Einwirkung auf eine Infektionskrankheit, die Lungentuberkulose studiert hat, dafs die Einatmung von Dosen von 0,17—0,07‰ des SO_2 die Entwicklung der Tuberkulose zu begünstigen vermöge.

Bei dieser Verschiedenheit der Angaben wufste ich anfangs nicht, mit welcher Dosis ich meine Experimente beginnen sollte, aber nach Vornahme einiger einleitender Versuche entschlofs ich mich in der Folge, bei den von mir gewählten Tieren die Dosis von 0,5‰ zur Einatmung zu bringen; eine Dosis, die nahezu derjenigen gleich ist, welche Ogata angibt, und die in der Mitte steht zwischen den wenig zuverlässigen Hirts und jenen Lehmanns.

Die Zubereitung der für die Inhalationen nötigen schwefligen Säure wurde von mir mit Sodasulfit und Schwefelsäure gemäfs der Formel

$$Na_2\,SO_3 + H_2\,SO_4 = Na\,SO_4 + H_2\,O + SO_2$$

vorgenommen; ich brachte die am häufigsten gebrauchte Salzsäure nicht zur Anwendung, um zu vermeiden, dafs sich dem SO_2 Dämpfe von HCl beimischen möchten.

Was die Art und Weise angeht, mit der ich das Gas in der gewollten Menge in die Kammern brachte, so griff ich, da mir

eine verhältnismäfsig wenig kostspielige Flüssigkeit, die fähig wäre, das SO_2 zu verdrängen, ohne dafs es sich doch kombiniere, nicht zur Verfügung stand, zu seiner schnellen Entwicklung von Fall zu Fall, wenn ich die Gasladung für die Kammern vornehmen mufste. Und um für jede Ladung immer die gleiche Gasmenge auf Grund der molekularen Gewichte der für die Entwicklung gebrauchten Körper und gemäfs den von der Formel angegebenen Proportionen zu erhalten, stellte ich ein für allemal die zur Hervorbringung der gewollten Menge von SO_2 nötige Menge von Sodasulfit und von Schwefelsäure fest. Da jedoch das in den Handel gebrachte Sodasulfit nicht immer imstande ist, das ganze SO_2, wie es von der Formel selbst angegeben ist, hervorzubringen, und um der Gasmenge, die ich produzierte, sicher zu sein und einem andauernden Irrtum aus dem Wege zu gehen, machte ich die sogen. Substanzproben; d. h. ich erwarb auf einmal das ganze für meine Versuche nötige Sulfit, stellte für jede Gewichtseinheit desselben fest, was sie mir an SO_2 zu ergeben vermöchte, und auf Grundlage dieser Ergebnisse regelte ich alle folgenden Entwicklungsvorgänge.

Das von Fall zu Fall in gemeinschaftlichen Entwicklern hergestellte Gas wurde in die Kammern geführt, indem ich die mit Welterscher Röhre versehene Entwicklungsflasche mit der Gaszuführungsröhre, deren jede Kammer eine besafs, verband.

Bevor ich jedoch die Versuche einleitete, wollte ich mich auch bei diesem Gase wie beim Chlor versichern, ob es sich in den Inhalationskammern in den gegebenen Proportionen erhalte, bzw. ob sich seine Menge, sei es durch die Gegenwart der Tiere oder durch das Material, aus dem die Kammern selbst gemacht worden waren, während der halbstündigen Periode, die zwischen einer und der anderen Ladung und der Lüftung der Kammern bestand, vermindere.

Zu diesem Zwecke machte ich mehrere quantitative Untersuchungen des in den Kammern enthaltenen SO_2, einige während der ersten Hälften jeder halben Stunde sofort nach Einführung des Gases in die Kammern selbst, andere in den letzten Hälften,

jedoch vor der Ventilierung der Kammern, und dies mehrmals nacheinander, um die Untersuchung über eine verhältnismäfsig gröfsere Luftmenge erstrecken zu können.

Die Feststellung des SO_2 wurde ausgeführt, indem ich mittels eines Wasseransaugers eine gegebene Luftmenge durch eine Lösung von Pottaschenlauge zu 20%, die organischer Substanzen und Chlorüre ermangelte, hindurchgehen liefs und dann die Menge von SO_2, die von der Lauge fixiert war, durch eine Lösung von Kaliumpermanganat hindurchgehen liefs, die in der Weise gemacht worden war, dafs 1 ccm derselben imstande sei, genau 1 mg von SO_2 in SO_3 ($KMnO_4$ 0,989 mg in 1 l Wasser) umzuwandeln. Die Hypermanganlösung wurde vor dem Gebrauch zu genauer Feststellung ihres Titels mit einer entsprechenden Lösung von Oxalsäure (1,97 mg in 1 l) festgestellt. In der Folge, um das gesuchte SO_2 in Volumen statt im Gewicht zu erhalten, wissend, dafs 1 mg SO_2 in Volumen 0,349 ccm bei 0° C und bei 760 mm atmosphärischen Druckes entspricht, erhielt ich mit einer einfachen Berechnung die Quantität an SO_2 der geprüften Luft.

Die Ergebnisse sind die folgenden:

Luft der Kammer sofort nach der Einführung des Gases.

I. Untersuchung	— SO_2 —	ccm	0,496‰
II. »	»	»	0,471‰
III. »	»	»	0,487‰.

Luft der Kammer in der letzten Periode jeder halben Stunde.

I. Untersuchung	— SO_2 —	ccm	0,451‰
II. »	»	»	0,456‰
III. »	»	»	0,462‰.

Es ergibt sich also aus den sechs ausgeführten Untersuchungen, dafs das SO_2 durchschnittlich in den Verhältnissen von 0,483‰ in den Kammern anzufinden war, weshalb ich glaubte, richtig zu handeln, wenn ich unter Nichtbeachtung gewisser Bruchteile, die für die Untersuchungen an Tieren keinen Wert gehabt hätten, mit der Dosis von zirka 0,5‰ des SO_2 experimentierte

Nachdem ich derart die Vorbereitungen getroffen und die hauptsächlichen Daten mit einleitenden Proben festgelegt hatte, ging ich zu den mir gestellten Experimenten über.

Inhalationen von schwefliger Säure zu 0,5 ‰.

Ich wählte unter Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben 40 Tiere, und nachdem ich sie insgesamt gut gegengezeichnet hatte, bestimmte ich von jedem derselben das Gewicht und machte auch bei allen die Blutprobe; darauf unterzog ich sie den Einatmungen von SO_2 bei 0,5 ‰ durch die Dauer eines Monates und für 6 oder 7 Stunden täglich, dabei, wie gesagt, die Luft in den Kammern jede halbe Stunde erneuernd und darauf sofort jedesmal neue Gaszufuhr erwirkend. Am Ende des Monats erneuerte ich die einzelnen Abwägungen und die Blutprobe und nahm auch einige spektroskopische Blutprüfungen an einigen der Versuchstiere vor. Die Ergebnisse sind in der Tabelle Nr. 8 verzeichnet.

Ich muſs hier erwähnen, daſs die Tiere fast alle während der Inhalationsperiode zu Anfang nieſsten und nach einiger Zeit Beklemmungen, reichlichen Tränenfluſs und Unruhe darboten, Erscheinungen, welche gegen das Ende der zweiten Woche verschwanden; man dürfte deshalb mit Lehmann annehmen, daſs für dieses Gas in gewissen Grenzen eine Art Anpassungsvermögen besteht.

Während der 30 Inhalationstage gingen drei Tiere ein, ein Kaninchen gegen den 18. Tag und zwei Meerschweinchen, eines gegen den 5. Tag, das andere nach dem 15. Tage. Bei der Autopsie aller drei Tiere fand ich, wie auch Ogata in seinen Versuchen hervorhob, das Blut von einer schwärzlichroten Farbe und die Lungen mit kleinen rötlichen Flecken bedeckt und leicht emphysematisch, besonders an den Rändern.

Tabelle VIII.

Blutprobe und Wägung der Tiere vor und nach den Inhalationen von schwefliger Säure (zu 0,5 ‰).

Versuchstiere	Vor den Inhalationen			Nach 30täg. Inhalationen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	2090	6 200 000	70	1985	7 800 000	90
» 2	2000	6 000 000	75	1905	7 000 000	85
» 3	2100	6 100 000	75	1995	7 400 000	85
» 4	1980	6 000 000	70	1930	6 900 000	80
» 5	1675	8 000 000	78	1540	8 700 000	90
» 6	1540	6 500 000	60	1550	6 600 000	75
» 7	1760	6 300 000	70	1645	7 200 000	75
» 8	1345	7 300 000	75	1310	8 100 000	85
» 9	1305	6 000 000	58	1230	7 000 000	85
» 10	1730	5 500 000	45	1800	8 000 000	70
» 11	1685	6 000 000	75	1650	8 200 000	87
» 12	1900	6 700 000	70	1800	7 000 000	75
» 13	1860	5 800 000	65	1810	6 900 000	75
» 14	2010	6 500 000	75	Tot nach 18 Tagen		
» 15	1930	6 100 000	70	1900	7 000 000	80
Meerschw. 1	462	5 800 000	80	430	6 600 000	85
» 2	500	5 100 000	75	450	6 000 000	80
» 3	480	6 000 000	75	440	6 100 000	80
» 4	465	5 500 000	70	435	6 200 000	75
» 5	600	5 300 000	60	550	5 800 000	80
» 6	490	6 700 000	72	430	6 700 000	80
» 7	475	7 000 000	80	Tot nach 15 Tagen		
» 8	552	5 400 000	73	525	5 700 000	75
» 9	525	5 000 000	85	495	6 400 000	85
» 10	642	5 800 000	80	610	5 900 000	88
» 11	365	4 300 000	82	365	5 000 000	80
» 12	480	6 400 000	70	460	7 000 000	80
» 13	510	6 000 000	75	500	6 700 000	75
» 14	495	5 700 000	70	460	6 000 000	80
» 15	460	5 000 000	70	430	6 100 000	80
» 16	500	6 000 000	50	475	7 000 000	75
» 17	410	6 500 000	65	400	7 100 000	75
» 18	480	7 000 000	65	460	7 000 000	80
» 19	525	5 600 000	68	500	6 900 000	78
» 20	380	4 900 000	70	380	6 000 000	85
» 21	485	6 000 000	75	Tot nach 5 Tagen		
» 22	460	6 500 000	70	450	6 900 000	78
» 23	510	5 800 000	75	490	6 800 000	85
» 24	380	5 000 000	60	350	6 000 000	80
Taube 1	520	5 100 000	—	500	5 200 000	—
» 2	480	4 700 000	—	480	5 100 000	—
» 3	500	4 9000 00	—	475	5 000 000	—

Aus der Prüfung der Tabelle ergeben sich verschiedene beachtenswerte Tatsachen.

Vor allem brachte die verlängerte Inhalation von SO_2 zu 0,5‰ eine Gewichtsverminderung in allen Tieren hervor, mit einem Maximum von 60 g (Kaninchen Nr. 1 und 3). Man darf also schliefsen, dafs das SO_2 in der Dosis von 0,5‰ bei den Tieren Ernährungsstörungen hervorbringt, aus denen sich eben die Gewichtsverminderung ergibt. Interessanter noch sind aber die bei der Blutprüfung erhaltenen Resultate; bei allen Tieren wurde wider alles Erwarten beständig eine Zunahme sowohl der Zahl der roten Blutkörperchen als auch des Hämoglobingehaltes angetroffen. Eine solche Zunahme, vereint mit einer Gewichtsverminderung der Tiere, vermöchte nicht physiologisch zu erscheinen und deshalb könnte sie entweder einer gröfseren Blutkonzentration oder einer teilweisen Umwandlung des Hämoglobins in Schwefelhämoglobin zuzuschreiben sein, welch letztere, indem sie eine intensivere Färbung annimmt, das Wasser des Kämmerchens des Fleischlschen Hämometers tiefer gefärbt hatte.

Ogata wies in seinen Versuchen an mit schwefliger Säure vergifteten Tieren nach, dafs das Blut derselben durch die Umwandlung des SO_2 in SO_3 schwärzlich geworden war auf Kosten des O des Hämoglobins, das alteriert blieb und das unter dem Spektroskop nicht mehr die bekannten Absorptionsstreifen darbot.

Obschon ich in meinem Falle bei der spektroskopischen Prüfung des Blutes der von mir zu Versuchszwecken herangezogenen Tiere stets die beiden dem Oxyhämoglobin eigentümlichen Streifen anzutreffen vermochte, stellte ich immerhin fest, dafs das kaum dem Tiere entnommene Blut eine dunklere Färbung hatte. Sicherlich hatten die von mir verwendeten Tiere nur verhältnismäfsig kleine Dosen von schwefliger Säure im Vergleich zu jenen Ogatas eingeatmet, so dafs es, wenn ich auch im Spektroskop noch die charakteristischen Streifen antraf, die mir übrigens, um die Wahrheit zu sagen, ein wenig blasser als gewöhnlich erschienen, wohl sein könnte, dafs dennoch eine gewisse teilweise Veränderung des Hämoglobins stattgefunden hätte,

und dafs auf Grund der auch von mir festgestellten Änderung der Farbe diese dem Hämometer Daten gebe, die nicht der Wahrheit entsprechen.

Wenn man diese zweite Hypothese zulassen will, könnte man dann die Zunahme der roten Blutkörperchen als der Hyperfunktionalität der hämopsychischen Organe zu verdanken auslegen, welche jene Hämatika ersetzen will, deren Hämoglobin von SO_2 fixiert worden wäre.

Eine nahezu analoge Tatsache wurde neuerdings von Reinholdt in zwei Arbeitern einer Gasfabrik angetroffen, welche infolge einer leichten CO-Intoxikation aufser einigen Störungen Hyperglobulin (in einem Falle 9—11 Millionen, im anderen 7½ Millionen) darboten. Alles das lege ich natürlich nur als einfache Hypothese vor, denn im Hinblick auf das Aufeinanderfolgen der zahlreichen Versuche, die ich mir zum Ziele gestellt hatte, konnte ich nicht in eine andere Anordnung der Untersuchungen eintreten, wie dies mein Wunsch gewesen wäre, um eine Erklärung der ungewöhnlichen Tatsache einer Zunahme des Hämoglobins und der roten Blutkörperchen in Verbindung mit einer Gewichtsverminderung der Tiere zu finden.

Zum Schlusse kommend mufs ich also, wie man auch die Tatsache erklären wolle, hervorheben, dafs die Inhalationen von SO_2 zu O 5‰ in den von mir zu Versuchszwecken gebrauchten Tieren eine Gewichtsverminderung und eine Zunahme in der Zahl der roten Blutkörperchen wie im durch Fleischls Hämometer erwiesenen Hämoglobin hervorbrachten.

Veränderungen des agglutinierenden Vermögens des Blutserums der gegen den Typhus immunisierten Tiere.

Die Kaninchen Nr. 1, 2, 3, 4, welche die Inhalationen des SO_2 zu 0,5‰ zugleich mit vier anderen Kontrollkaninchen erlitten, wurden mit Typhus-Toxin in der in nachstehender Tabelle bezeichneten Dosis und mit der gleichen Technik wie bei den früheren Versuchen inokuliert.

Tabelle IX.

Tiere, welche SO_2 zu 0,05‰ einen Monat lang einatmeten					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in Grammen	I. Inokulation v. Toxin 0,4 ccm pro je 100 g	II. Inokulation v. Toxin 0,6 ccm pro je 100 g	Agglutinierender Wert des Serums	Versuchstiere	Gewicht in Grammen	I. Inokulation v. Toxin 0,4 ccm pro je 100 g	II. Inokulation v. Toxin 0,6 ccm pro je 100 g	Agglutinierender Wert des Serums
Kaninchen Nr. 1	1985	8	12	1 : 500	Kaninchen 1 bis	1930	7,5	11,5	1 : 1400
» » 2	1905	8	12	1 : 700	» 2	1860	7	11	1 : 1100
» » 3	1995	8	12	1 : 450	» 3 »	2000	8	12	1 : 950
» » 4	1930	8	12	1 : 550	» 4 »	2020	8	12	1 : 1500

Aus der Prüfung der Tabelle ergibt sich, daſs die Kontrolltiere eine gröſsere Menge agglutinierender Substanz als jene Tiere hervorbrachten, welche schweflige Säure zu 0,5‰ einatmeten; aus den Durchschnittszahlen geht in der Tat hervor, daſs die Kaninchen, welche das Gas einatmeten, einen agglutinierenden Wert ihres Serums ergaben, der gleich 1 : 550 war, während die Kontrolltiere einen Wert von 1 : 1237, weit mehr also als das Doppelte ergaben.

Veränderungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums der gegen die Typhusinfektion immunisierten Tiere.

Die Meerschweinchen Nr. 1, 2, 3, 4, 5, 6, welche SO_2 zu 0,5‰ zugleich mit anderen sechs Kontroll-Meerschweinchen inhalierten, wurden gegen den Typhus mit der zu Anfang beschriebenen Methode immunisiert, und gegen den 12. Tag nach den Inokulationen wurde der Titel ihres Serums und zwar immer mit Typhus-Virus in doppelt tödlicher Dosis festgestellt.

Tabelle X.

Tiere, welche SO_2 (0,5‰) inhalierten.		Kontrolltiere.	
Versuchstiere	Serum-Titel (ccm)	Versuchstiere	Serum-Titel (ccm)
Meerschweinchen Nr. 1 starb während der Immunisierung.		Meerschweinchen Nr. 1 bis	0,10
Meerschweinchen Nr. 2	0,20	» » 2 »	0,05
» » 3	0,10	» » 3 »	0,05
» » 4	0,10	» » 4 »	0,05
» » 5	0,30	» » 5 »	0,10
» » 6	0,20	» » 6 »	0,10

Der Serum-Titel der Meerschweinchen, welche die Inhalationen erlitten, ist auch hier bedeutend niedriger als jener der Kontrolltiere, so dafs wir auch für diese Untersuchung wie auch für jene des agglutinierenden Vermögens einen gewissen schädlichen Einflufs von seiten der schwefligen Säure auf die Hervorbringung von Antikörpern anerkennen müssen.

Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Auch bei der schwefligen Säure wollte ich mich wie zuvor beim Chlor vorerst vergewissern, ob der B. prodig. den schädlichen Einflufs des Gases in der von mir verwendeten Verdünnung verspüre, wenn er demselben für längere Zeit ausgesetzt würde. Ich machte deshalb die Probe, indem ich in die 0,5‰ von SO_2 enthaltenden Inhalationskammern trockene und feuchte mit B. prodig. getränkte Seidenfäden brachte, welche durch über 98 Stunden exponiert blieben. In all den mit diesen Fäden gemachten Plättchen ergab sich immer ausgiebige Entwicklung des Bazillus. Nach Feststellung der Tatsache, dafs das SO_2 in den von mir verwendeten Proportionen das Leben des B. prodig. nicht beeinträchtigte, begann ich meine Versuche. Ich liefs zugleich 7 präparierten Meerschweinchen und 7 Kontroll-Meerschweinchen in meiner Verstäubungskassette den B. prodig. einatmen und ging dann in der Folge zur quantitativen Feststellung des Bazillus in den Lungen der verschiedenen Tiere über. Die Ergebnisse sind in der Tabelle Nr. XI vorgelegt.

Tabelle XI.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodig. und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenstücke						Gesamtzahl d. Kolonien v. B. prodig. pro ccm Lunge berechnet
		Apix rechte Lunge		am 1/2 rechten unt. Lappen		Basis linker Lunge		
		Geprüftes Volumen l. ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Geprüftes Volumen l. ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Geprüftes Volumen l. ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	
Tiere, welche SO_2 (0,5 ‰) einen Monat hindurch einatmeten.								
Meerschw. 8	Stunden 12	0,2	268	0,5	370	0,3	426	1064
» 9	» 24	0,1	25	0,4	126	0,2	86	338
» 10	» 36	0,2	30	0,3	198	0,5	112	340
» 11	» 48	0,2	21	0,3	41	0,3	38	125
» 12	» 60	0,1 1/2	0	0,4	58	0,4 1/2	39	97
» 13	» 72	0,1	8	0,5	18	0,3	16	46
» 14	» 96	0,2	10	0,3	1	0,4	7	20
Kontrolltiere.								
Meerschw. 8 bis	Stunden 12	0,1	150	0,4	210	0,4	88	497
» 9 »	» 24	0,2	56	0,4	130	0,2	80	332
» 10 »	» 36	0,1 1/2	0	0,3	0	0,3	10	14
» 11 »	» 48	0,2	0	0,4	0	0,2 1/2	0	0
» 12 »	» 60	0,1	0	0,5	0	0,3	0	0
» 13 »	» 72	0,2	0	0,3	0	0,4	0	0
» 14 »	» 96	0,1 1/2	0	0,4	0	0,2	0	0

Wenn man die Gesamtzahl der auf 1 ccm Lungen berechneten Kolonien des B. prodig. untereinander vergleicht, ergeben sich sofort ganz bedeutende Unterschiede zwischen den vorbereiteten und den Kontrolltieren. Wir finden in der Tat, daſs die Zahl der Kolonien, die sich bei der Prüfung der Lungen jener Meerschweinchen ergab, welche SO_2 zu 0,5 ‰ einatmeten, bei weitem höher ist als diejenige, welche sich in den Lungen der Kontroll-Meerschweinchen ergab; und mehr noch, während bei den letzteren nach 48 Stunden alle inhalierten B. prodig. von den Lungen zerstört worden waren, fand sich in jenen, die das Gas inhalierten, der B. prodig. auch nach 96 Stunden noch lebend und gut entwicklungsfähig vor.

Man mufs daher schliefsen, dafs die Inhalationen von SO_2 zu 0,5‰ in den Lungen der Meerschweinchen eine bemerkenswerte Herabsetzung des den Lungen eigentümlichen bakteriziden Vermögens herbeiführen.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulentem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Die Kaninchen wurden subkutan mit 1 Schälchen virulenter Kulturpatina in Agar und die Meerschweinchen mit 1/2 Schälchen inokuliert.

Tiere, welche SO_2 (0,5‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 5 — stirbt nach 50 Stunden	Kaninchen Nr. 5 bis — stirbt nach 70 Stunden
Kaninchen Nr. 6 — stirbt nach 68 Stunden	Kaninchen Nr. 6 bis — stirbt nach 65 Stunden
Meerschweinchen Nr. 15 — stirbt nach 46 Stunden	Meerschweinchen Nr. 15 bis — stirbt nach 40 Stunden
Meerschweinchen Nr. 16 — stirbt nach 42 Stunden	Meerschweinchen Nr. 16 bis — stirbt nach 51 Stunden

Fränkelscher Diplokokkus.

Die Inokulationen frischer Bouillonkultur wurden an den Tieren subkutan in der Menge von 1 ccm für jedes vorgenommen.

Tiere, welche SO_2 (0,5‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 7 — stirbt nach 60 Stunden	Kaninchen Nr. 7 bis — stirbt nach 118 Stunden
Kaninchen Nr. 8 — stirbt nach 82 Stunden	Kaninchen Nr. 8 bis — stirbt nach 120 Stunden
Kaninchen Nr. 9 — stirbt nach 42 Stunden	Kaninchen Nr. 9 bis — stirbt nach 160 Stunden

Typhus.

Die Injektionen wurden mit 1/2 ccm virulenter, 24 stündiger Bouillonkultur vorgenommen.

Tiere, welche SO_2 (0,5‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 17 — stirbt nach 16 Stunden	Meerschweinchen Nr. 17 bis — stirbt nach 40 Stunden
Meerschweinchen Nr. 18 — stirbt nach 30 Stunden	Meerschweinchen Nr. 18 bis — stirbt nach 62 Stunden
Meerschweinchen Nr. 19 — stirbt nach 21 Stunden	Meerschweinchen Nr. 19 bis — stirbt nach 79 Stunden

Tuberkulose (Lungen-Innest).

Die präparierten Meerschweinchen wie auch diejenigen der Kontrolle inhalierten in dem Kästchen von Lungen-Innesten durch über eine Stunde Lykopodiumpulver, das zuvor mit Sputa gemischt und getrocknet war, in denen sich eine reichliche Menge von Tuberkelbazillen befand.

Tiere, welche SO_2 (0,5 °/₀₀) inhalierten.	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 20 — stirbt nach 60 Tagen — diffuse Tuberkulose	Meerschweinchen Nr. 20 bis — stirbt nach 120 Tagen — verallgemeinerte Tuberkulose
Meerschweinchen Nr. 22 — stirbt nach 56 Tagen — Lungentuberkulose, einige Tuberkel in der Leber	Meerschweinchen Nr. 22 bis — stirbt nach 89 Tagen — verallgemeinerte Tuberkulose
Meerschweinchen Nr. 23 — stirbt nach 75 Tagen — schwere und allgemeine Lungentuberkulose	Meerschweinchen Nr. 23 bis — getötet nach 160 Tagen — verallgemeinerte Tuberkulose
Meerschweinchen Nr. 24 — stirbt nach 68 Tagen — schwere und allgemeine Lungentuberkulose	Meerschweinchen Nr. 24 bis — stirbt nach 97 Tagen — Lungentuberkulose, einige Tuberkel in der Milz

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächtem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Die Milzbrandkulturen wurden mit derselben Methode abgeschwächt, wie ich sie für die Tiere beschrieb, welche Chlor einatmeten

Tiere, welche SO_2 (0,5 °/₀₀) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 9 — keinerlei merkbare Symptome	Kanincken Nr. 9 bis — keine merkbaren Symptome
Kaninchen Nr. 10 — stirbt nach 160 Stunden	Kaninchen Nr. 10 bis — keine merkbaren Symptome
Kaninchen Nr. 11 — erkrankt, erholt sich aber nach und nach wieder	Kaninchen Nr. 11 bis — keine merkbaren Symptome

Fränkelscher Diplococcus.

Die tödliche Mineraldosis der von mir verwendeten Bouillonkultur betrug 2 ccm. Die Versuchstiere wurden mit 1 ccm inokuliert.

Tiere, welche SO_2 (0,5 °/₀₀) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 12 — stirbt nach 100 Stunden	Kaninchen Nr. 12 bis — keine merkbaren Symptome
Kaninchen Nr. 13 — keine merkbaren Symptome	Kaninchen Nr. 13 bis — keine merkbaren Symptome
Kaninchen Nr. 15 — erkrankt, erholt sich aber langsam wieder	Kaninchen Nr. 15 bis — keine merkbaren Symptome

Verhalten der immunen Tiere gegenüber der Inokulation von für rezeptive Tiere virulentem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Die Tiere wurden subkutan mit zwei Schälchen virulenter Kultur inokuliert.

Tiere, welche SO_2 (0,5 ‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Taube Nr. 1 — keinerlei Symptome	Taube Nr. 1 bis — keine Symptome
» » 2 — erkrankt, erholt sich aber wieder	» » 2 » — » »
Taube Nr. 3 — erkrankt, erholt sich aber wieder	» » 3 » — » »

Wenn man die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen betrachtet, so kommt man zu folgenden Schlüssen:

Was das Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulentem Virus angeht, so boten die Kaninchen, welche SO_2 zu 0,5 ‰ einatmeten, bei der Inokulierung mit hämatischem Milzbrand im Vergleich zu den Kontrolltieren keinerlei beachtenswerte Unterschiede und zwar weder im Hinblick auf den Verlauf der Krankheit noch in jenem auf die zwischen der Inokulation und dem Tode verlaufene Zeit; das Gleiche läfst sich für die Meerschweinchen sagen; wahrscheinlich liegt die Erklärung dafür in der starken Virulenz der Kultur selbst, mit welcher die Inokulationen vorgenommen wurden. Wesentlich andere Resultate boten sich hingegen in den mit dem Diplokokkus der Pneumonie inokulierten Tieren. In der Tat gingen, während die Kontrolltiere zwischen 118 und 160 Stunden starben, diejenigen, die den Gasinhalationen ausgesetzt worden waren, in einem weit geringeren Zeitraum ein, nämlich zwischen 42 und 82 Stunden. Das Gleiche gilt für die mit Typhuskulturen inokulierten Tiere: die Tiere, welche SO_2 inhalierten, starben zwischen 16 und 21 Stunden, die Kontrolltiere zwischen 40 und 79 Stunden. Schliefslich beobachten wir auch in bezug auf die auf dem Wege durch die Lungen mittels Inhalation von virulenten Bazillen hervorgerufene tuberkuläre

Infektion nahezu gleiche Erscheinungen; die der Gasinhalation unterworfenen Meerschweinchen gingen in einer Zeit ein, welche zwischen 56 und 75 Tagen variierte, und alle boten bei der Autopsie ziemlich ausgebreitete Läsionen, zumal im Respirationsapparat dar, während die Kontrollmeerschweinchen in einem Zeitraum starben, welcher zwischen 89 und 120 Tagen schwankte und bei deren Autopsie sich zwar auch Tuberkel in den Lungen vorfanden, jedoch diese Organe nie wie diejenigen der vorgenannten von der Infektion ergriffen waren, derart zwar, dafs es scheint, die Lungen der Meerschweinchen, welche SO_2 inhalierten, hätten einen geringeren Widerstand für die Verbreitung der Infektion sowohl in den Lungen wie im gesamten Organismus dargeboten. Und man denke, dafs es eine Zeit gab, in der man die Behandlung der Tuberkulose mit Einatmungen schwefliger Säure empfahl!

Beim Studium des Verhaltens der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächtem Virus ergaben die Tiere insgesamt nicht jene vorhin erhaltenen übereinstimmenden Resultate, jedoch mufs man auch bedenken, dafs aufser der Verschiedenheit der individuellen Resistenz bei dieser Untersuchung, wie ich schon zu Anfang sagte, die Schwierigkeit besteht, die Virulenz des Keimes bis zu einem solchen Punkte abzuschwächen, dafs er das gesunde Tier nicht mehr zu töten vermöge, wohl aber noch schädlich sei für einen nicht eigentlich kranken, jedoch bis zu einem gewissen Grade geschwächten Organismus. Trotz alledem sehen wir, dafs von den drei mit abgeschwächtem Milzbrand inokulierten Kaninchen, welche SO_2 inhalierten, eines starb, eines durch etliche Tage krank war und das letzte sich gesund erhielt; im Vergleich boten alle drei Kontrollkaninchen niemals irgendwelche Störung dar. Die gleichen Resultate wurden infolge der Inokulationen mit dem Fränkelschen Diplokokkus erzielt.

Was nun das Verhalten der immunen Tiere gegenüber der Inokulation von für rezeptive Tiere virulentem Virus angeht, so haben wir auch hier einen Unterschied zwischen den präparierten Tieren und denen der Kon-

trolle hervorgehoben. Von den drei Tauben, welche nach vorausgegangener Inokulation von hämatischem Milzbrand Gas inhalierten, bot eine keinerlei Störungen dar, aber zwei derselben hockten einige Zeit mit gesträubten Federn und herabhängenden Flügeln, ohne Nahrung zu nehmen, in einem Winkel des Käfigs, um sich dann nach und nach wieder zu erholen. Aus alledem ist erkennbar, dafs sie eine Störung erlitten, während bei den Kontrolltieren keines von solchen Symptomen bemerkbar ward.

Wenn wir alle diese Ergebnisse zusammenfassen, erkennen wir also, dafs die verlängerten Einatmungen von schwefliger Säure in der Menge von 0,5‰ in den ihnen unterworfenen Tieren hervorrufen:

I. Eine Störung in der allgemeinen Ernährung und eine Alteration in der Blutzusammensetzung.

II. Eine Herabsetzung in der Produktion spezifischer bakterizider Substanzen.

III. Eine Herabsetzung in der Produktion spezifischer agglutinierter Substanzen.

IV. Eine Herabsetzung des natürlichen bakteriziden Vermögens der Lungen.

V. Eine Widerstandsherabsetzung gegenüber den infektiven Agentien von seiten der rezeptiven Tiere.

VI. Eine wenn auch nur teilweise Einbufse der natürlichen Immunität von seiten der refraktären Tiere gegenüber einer gegebenen Infektion.

Der Zweck meiner vorliegenden Arbeit ist jedoch nicht nur derjenige, festzustellen, ob die Inhalation eines gegebenen Gases die Entwicklung der Infektionen mehr oder weniger begünstigen könne. Schon von Anfang an hatte ich mir vorgenommen, auch zu ergründen, welche die Maximaldosis an Gas sei, die eingeatmet werden könne, ohne dafs die natürlichen Verteidigungs-

kräfte des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten Schaden zu erleiden vermöchten; d. h. ohne daſs die Prädisposition für die Infektion durch diese Inhalationen vermehrt werde.

Um dieses Ziel zu erreichen und nicht all' die vorausgegangenen Experimente mit verschiedenen Gasverdünnungen wiederholen zu müssen, habe ich zuvor einige Probeversuche mit kleinen Tiergruppen vornehmen wollen.

Einatmungen von schwefliger Säure zu 0,1 ‰.

Die durch 15 Tage der Inhalation dieser Gasdosis unterworfenen Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen und Tauben) boten eine leichte Abnahme in der Produktion von agglutinierender Substanz und ebenso eine leichte Verminderung des bakteriziden Vermögens der Lungen dar. Sie gingen in einer kürzeren Zeit ein als die Kontrolltiere, nachdem ihnen Kulturen von virulentem hämatischem Milzbrand inokuliert worden waren, starben hingegen nicht, sondern boten nur etliche Störungen dar nach erfolgter Inokulation von abgeschwächten Kulturen des hämatischen Milzbrandes und des Pneumokokkus.

Die mit Milzbrand inokulierten immunen Tiere (Tauben) wiesen keinerlei sichtbare Störung auf.

Im Verlauf dieser Ergebnisse war mir klar, daſs ich mich der von mir gesuchten Dosis näherte, weshalb ich, statt mit anderen Versuchsproben fortzufahren, mir zum Ziele setzte, den Einfluſs mit Regelmäſsigkeit festzustellen, den die kleinste Dosis des 0,05 ‰ stets auf die Disposition zu den infektiven Krankheiten auszuüben vermöchte.

Einatmung von schwefliger Säure zu 0,05 ‰.

Mit der früher gebrauchten Technik wiederholte ich die zu Anfang ausgeführten Versuche, deren Ergebnisse, um nicht in Wiederholungen zu verfallen, in folgenden Tabellen zusammengefaſst sind:

Tabelle XII.

Blutprüfung und Wägung der Tiere vor und nach den Inhalationen von schwefliger Säure (0,05 °/₀₀).

Versuchstiere	Vor den Inhalationen			Nach 30täg. Inhalationen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	1400	6 100 000	70	1410	6 000 000	75
» 2	1330	5 800 000	75	1315	6 000 000	75
» 3	1210	7 000 000	60	1220	6 500 000	70
» 4	1360	6 400 000	70	1350	6 000 000	70
» 5	1820	6 000 000	75	1800	5 800 000	75
» 6	1100	6 900 000	65	1145	6 500 000	75
» 7	1250	5 000 000	70	1300	6 100 000	65
» 8	1420	6 200 000	75	1400	6 000 000	70
» 9	1700	6 400 000	80	1675	6 500 000	75
» 10	1460	4 900 000	70	1480	5 600 000	70
» 11	1910	6 800 000	75	1900	6 500 000	80
» 12	1610	5 800 000	75	1600	6 000 000	80
» 13	1420	6 700 000	65	1460	6 500 000	70
» 14	1600	6 000 000	70	1610	5 900 000	70
Meerschw. 1	410	7 000 000	75	400	6 500 000	75
» 2	360	6 100 000	70	365	6 000 000	75
» 3	385	6 700 000	75	380	6 400 000	70
» 4	320	5 600 000	70	340	6 100 000	75
» 5	365	5 900 000	75	360	6 000 000	75
» 6	340	6 800 000	80	340	6 600 000	80
» 7	395	6 000 000	70	390	6 100 000	75
» 8	460	6 300 000	60	440	6 000 000	65
» 9	490	6 900 000	70	500	6 000 000	65
» 10	500	6 200 000	65	490	6 600 000	70
» 11	385	4 500 000	60	360	4 000 000	60
» 12	430	6 500 000	70	440	6 200 000	75
» 13	550	6 000 000	75	525	6 000 000	70
» 14	435	7 000 000	75	430	6 800 000	70
» 15	460	6 500 000	80	460	6 000 000	75
» 16	380	6 800 000	60	395	6 300 000	70
» 17	480	5 900 000	70	460	6 000 000	70
» 18	560	6 400 000	70	540	6 800 000	75
» 19	425	6 000 000	65	420	6 200 000	75
» 20	380	6 300 000	60	395	6 000 000	65
Taube 1	510	5 000 000	—	560	5 000 000	—
» 2	540	4 600 000	—	585	5 100 000	—

Veränderungen des agglutinierenden Vermögens des Blutserums von gegen den Typhus immunisierten Tieren.

Tabelle XIII.

Tiere, welche SO_2 in 0,05 ‰ einen Monat hindurch einatmeten					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in g	I. Inokulation v. 0,4 ccm Toxin für je 100 g	II. Inokulation v. 0,6 ccm Toxin für je 100 g	Agglutinierender Wert des Serums	Versuchstiere	Gewicht in g	I. Inokulation v. 0,4 ccm Toxin für je 100 g	II. Inokulation v. 0,6 ccm Toxin für je 100 g	Agglutinierender Wert des Serums
Kaninchen 1	1400	5,5	8,5	1:1100	Kaninch. 1 bis	1500	6	9	1:1500
» 2	1315	5,5	8	1:1000	» 2 »	1290	5,5	8	1:800
» 3	1220	5	7,5	1:900	» 3 »	1160	5	7	1:1000
» 4	1350	5,5	8,5	1:2000	» 4 »	1400	5,5	8,5	1:1300

Veränderungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums von gegen die Typhusinfektion immunisierten Tieren.

Tabelle XIV.

Tiere, welche SO_2 zu 0,05 ‰ einen Monat lang einatmeten.		Kontrolltiere.	
Versuchstiere	Serum Titel	Versuchstiere	Serum-Titel
Meerschweinchen Nr. 1	0,10	Meerschweinchen Nr. 1 bis	0,05
» » 2	0,10	» » 2 »	0,05
» » 3	0,15	» » 3 »	0,15
» » 4	0,05	» » 4 »	0,10
» » 5	0,15	» » 5 »	0,15
» » 6	0,10	» » 6 »	0,05

Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Tabelle XV.

Versuchstiere	Zeit, die zwischen der Inhalation des B. prod. und der Suche nach demselben verstrichen ist.	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge — Geprüftes Volumen in ccm	Apix rechter Lunge — Zahl der berechneten Kolonien von B. prod.	Am 1/3 recht. unt. Lappen — Geprüftes Volumen in ccm	Am 1/3 recht. unt. Lappen — Zahl der berechneten Kolonien von B. prod.	Basis linker Lunge — Geprüftes Volumen in ccm	Basis linker Lunge — Zahl der berechneten Kolonien von B. prod.	Gesamtzahl der Kolonien des B. prodig. auf 1 ccm Lunge verteilt
Tiere, welche SO_2 (0,05‰) einen Monat lang einatmeten.								
Meerschweinchen 7	Stunden 12	0,2	200	0,3	290	0,3	195	856
» 8	» 24	0,1	20	0,3	160	0,4	100	450
» 9	» 36	0,2	8	0,5	21	0,3	4	33
» 10	» 48	0,1	0	0,4	0	0,2	2	2
» 11	» 60	0,2	0	0,3	0	0,3	0	0
» 12	» 72	0,1½	0	0,4	0	0,3	0	0
Kontrolltiere.								
Meerschweinchen 7 bis	Stunden 12	0,1	118	0,3	180	0,3	212	728
» 8 »	» 24	0,1	0	0,5	175	0,2	80	318
» 9 »	» 36	0,2	29	0,4	47	0,2	18	117
» 10 »	» 48	0,2	0	0,3	0	0,3	0	0
» 11 »	» 60	0,1½	0	0,3	0	0,4	0	0
» 12 »	» 72	0,2	0	0,4	0	0,5	0	0

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulentem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche SO_2 (0,05‰) einatmeten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 5 — stirbt nach 85 Stunden.	Kaninchen Nr. 5 bis — stirbt nach 90 Stunden.
Kaninchen Nr. 6 — stirbt nach 76 Stunden.	Kaninchen Nr. 6 bis — stirbt nach 81 Stunden.
Kaninchen Nr. 7 — stirbt nach 100 Stunden.	Kaninchen Nr. 7 bis — stirbt nach 96 Stunden.

Fränkelscher Diplokokkus.

Tiere, welche SO_2 (0,05‰) einatmeten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 8 — stirbt nach 93 Stunden.	Kaninchen Nr. 8 bis — stirbt nach 48 Stunden.
Kaninchen Nr. 9 — stirbt nach 79 Stunden.	Kaninchen Nr. 9 bis — stirbt nach 87 Stunden.
Kaninchen Nr. 10 — stirbt nach 110 Stunden.	Kaninchen Nr. 10 bis — stirbt nach 98 Stunden.

Typhus.

Tiere, welche SO_2 (0,05 ‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 13 — stirbt nach 36 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 13 bis — stirbt nach 61 Stunden.
Meerschweinchen Nr. 14 — stirbt nach 44 Stunden.	Meerschweinchen Nr 14 bis — stirbt nach 30 Stunden.
Meerschweinchen Nr. 15 — stirbt nach 62 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 15 bis — stirbt nach 45 Stunden.

Tuberkulose (Lungen-Innest).

Tiere, welche SO_2 (0,05 ‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 16 — stirbt nach 112 Tagen an ausgebreiteter Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 16 bis — stirbt nach 136 Tagen an Lungentuberkulose, etliche Tuberkeln in der Milz.
Meerschweinchen Nr. 17 — stirbt nach 96 Tagen an ausgebreiteter Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 17 bis — stirbt nach 104 Tagen an ausgebreiteter Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 18 — stirbt nach 165 Tagen an ausgebreiteter Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 18 bis — stirbt nach 90 Tagen an ausgebreiteter Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 19 — stirbt nach 100 Tagen an ausgebreiteter Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 19 bis — stirbt nach 160 Tagen an ausgebreiteter Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 20 — stirbt nach 91 Tagen an Lungentuberkulose mit etlichen Tuberkeln in der Leber.	

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächtem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche SO_2 (0,05 ‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 11 — keine merkbaren Symptome.	Kaninchen Nr. 11 bis — keine merkbaren Symptome.
Kaninchen Nr. 12 — friſst einen Tag nicht, dann erholt es sich wieder.	Kaninchen Nr. 12 bis — keine merkbaren Symptome.

Fränkelscher Diplokokkus.

Die tödliche Minimaldosis der Bouillonkulturen betrug 1 ccm für jedes Kaninchen; eingeimpft wurde $^1/_2$ ccm.

Tiere, welche SO_2 (0,05 ‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 13 — keine merkbaren Symptome.	Kaninchen Nr. 13 bis — keine merkbaren Symptome.
Kaninchen Nr. 14 — keine merkbaren Symptome.	Kaninchen Nr. 14 bis — keine merkbaren Symptome.

Verhalten der immunen Tiere gegenüber der Inokulation von für rezeptive Tiere virulenten Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche SO_2 (0,05‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Taube Nr. 1 keine Symptome.	Taube Nr. 1 bis — keine Symptome.
» » 2 » »	» » 2 » — » »

Die länger währenden Inhalationen von 0,05‰ von SO_2 ergaben wesentlich andere Resultate als die mit den früheren Dosen erzielten. Aus der fortschreitenden Prüfung der Tabellen sehen wir in der Tat, dafs wenn das Gewicht der Tiere in einigen (Nr. 18) Fällen im Maximum von 25 g zurückging, es bei anderen hinwiederum anstieg (einige nahmen selbst um 50 g zu).

Eine analoge Erscheinung ergab sich in bezug auf die Zahl der roten Blutkörperchen und auf den Hämoglobingehalt; d. h. ein Schwanken von leichten Zu- und Abnahmen, weshalb man nicht schliefsen kann, dafs die Inhalationen von Gas in dieser Dosis eine eigentlich schädliche Aktion auf die in Versuch genommenen Tiere ausgeübt haben, da ja die äufseren Tatsachen keine Beständigkeit zeigen.

Die Suche nach dem agglutinierenden Werte des Serums bot einen Durchschnitt von 1 : 1250 für jene Tiere dar, welche die Inhalationen erlitten, und von 1 : 1150 für die Kontrolltiere; wenn man also die biologischen Fakta nach dem Mafsstabe der chemischen Phänomene auslegen könnte, müfste man sogar eine Zunahme der Produktion von Agglutinin seitens der präparierten Tiere zugestehen, da aber derartige geringe Unterschiede für uns nur ungewisse Werte darstellen und deshalb nicht in Erwägung zu stellen sind, müssen wir sagen, dafs eine Differenz zwischen den vorbereiteten und den Kontrolltieren nicht erwiesen ward.

Gleiche Resultate wurden auch im Bereich der Forschung nach dem immunisierenden Vermögen des Blutserums der gegen den Typhus immunisierten Tiere erzielt, indem sich ergab, dafs die Tiere, welche das Gas einatmeten, einen Titeldurchschnitt von 0,10 Serum hatten, während die Kontrolltiere einen solchen von 0,09 aufwiesen. Selbst die Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen sind so wenig ausgeprägt, dafs man

auch für dieses Verteidigungsmittel keinerlei Differenz betonen kann. Tatsächlich waren die b. prodigiosus 48 Stunden nach dem Lungeninnest fast vollständig zerstört, sei es seitens der Lungen der Meerschweinchen, welche SO_2 einatmeten, sei es von seiten der Kontrolltiere, denn die Bazillen wurden in den geprüften Lungen weder nach 60 noch nach 72 Stunden, von der Inokulation an gerechnet, gefunden. Wenn man schliefslich die in den Tabellen vorgelegten Angaben bezüglich der direkten Inokulation von Virus betrachtet, sehen wir auch in ihnen, dafs sowohl für die Inokulation von virulentem Virus in rezeptiven Tieren (hämatischer Milzbrand, Fränklscher Diplokokkus, Typhus, Tuberkulose) wie auch für den Innest von abgeschwächtem Virus weder in bezug auf den Ablauf der verschiedenen Krankheiten noch im Hinblick auf die zwischen der Inokulation und dem Tode der Tiere verflossene Zeit, noch auch bezüglich des Überlebens derselben Daten bestehen, welche Schlüsse zugunsten der einen oder anderen Tiergruppe erlauben könnten.

Endlich ergaben auch die Inokulationen von virulentem Virus in immunen Tieren keinerlei merkbare Störungen bei den in Versuch genommenen Tieren.

Aus alledem kann man also schliefsen, dafs die längerwährenden Inhalationen von schwefliger Säure im Verhältnis von 0,05‰ in den Tieren, mit denen ich zu experimentieren hatte, keinerlei Veränderung in dem natürlichen Widerstand gegen die Infektionskrankheiten erzeugen, und dafs daher die Verteidigungskräfte des Organismus den letzteren gegenüber in ihren Funktionen nicht modifiziert werden.

Dafs diese Dosis schliefslich in gewissen Grenzen die Maximaldosis sei, welche derartige Störungen nicht hervorbringt, beweisen alle früher vorgetragenen Versuche, welche mit der Dosis von 0,5‰ gemacht waren und jene, welche zur Probe mit 0,1‰ vorgenommen waren.

Diesen Resultaten mufs ich eine kurze Betrachtung nachschicken zur Bestätigung der ersten Versuche mit der Dosis von 0,5‰ von SO_2, und zwar dahingehend, dafs alle in jenen Unter-

suchungen zutage getretenen Fakta nun mehr denn je ausschliefslich der Menge eingeatmeten Gases und keinerlei anderen Faktoren zuzuschreiben sind, denn wir haben jetzt zur Bestätigung davon die mit den kleinsten Gasmengen ausgeführten Versuche, bei denen sich die Tiere in denselben Verhältnissen befanden als die früheren, da nur die eingeatmete Gasmenge für dieselben eine andere geworden war.

Einatmungen von roten Dämpfen (Stickstofftetroxyd).

Die Dämpfe des Stickstofftetroxyds, auch rote Dämpfe geheifsen, sind fast die einzigen unter den gasigen, sauerstoffhaltigen Bestandteilen des Stickstoffs, welche in den Fabriken zur Atmung gelangen, da die anderen Bestandteile, weil zu unbeständig, sich in Berührung mit dem Sauerstoff der Luft in besagte Dämpfe selbst umwandeln.

Unter den reizenden Gasen sind diese Dämpfe die am wenigsten studierten, obzwar sie zu den schädlichsten gehören und in einer beträchtlichen Anzahl von Industrien zur Entwicklung gelangen.

Ich erwähne hier z. B. die Fabriken von Schwefelsäure, von acidum nitricum, von Scheidewasser, von Blausäure, von Oxalsäure, von Arsenik, von Nitrobenzin, von Eisenpersolphat; weiter auch die Fabrikation der künstlichen Perlen, der Zuckerraffinerien, die Fabrikation von Filzhüten, die chemischen Laboratorien, die Bereitung von Schwarz für die Färbung der Gewebe und zumal auch des Leders, die Zubereitung der Chromate, die Zelluloidfabrikation; ferner werden die roten Dämpfe auch eingeatmet von den bei der Herstellung rauchlosen Pulvers beschäftigten Arbeitern, von den Kupfer- etc. Ätzern, den Metallprüfern usw.

Überaus traurig sind tatsächlich die Folgen, welche die Inhalation bedeutender Mengen dieses Gases mit sich bringen kann; etliche Male trat der Tod einiger Individuen in weniger als einer Stunde ein und Beweise solcher Art werden in allen Handbüchern der Toxikologie aufgezählt.

Mit Ausnahme der Darstellung von unglücklichen Fällen akuter Vergiftungen jedoch wurden besondere Untersuchungen über dieses Gas von niemand anderem angestellt als von Eulen-

berg (1867), der jedoch wenig Licht über den Gegenstand brachte, und von Kobert in bezug auf das Blut.

Hirt machte im Jahre 1873 in Schottland einige direkte Beobachtungen an Arbeitern, die zur Einatmung solchen Gases gezwungen waren, jedoch wurden diese Beobachtungen, wie auch viele andere des gleichen Autors für andere Gase, nicht mit allzugrofser wissenschaftlicher Sorgfalt geführt.

Der Forscher drückte tatsächlich die Meinung aus, dafs die längeren Inhalationen von einem oder höchstens zwei Prozent roter Dämpfe den Arbeitern nicht zum Schaden zu werden vermögen; eine Behauptung, die, wie wir sehen werden, mit grofser Vorsicht aufzunehmen ist.

Bei der Austellung meiner Versuche mit diesem Gase boten sich mir gleich zu Anfang verschiedene Schwierigkeiten dar; sei es durch die Handhabung des Gases selbst, um seiner stark reizenden Wirkung auf die Organe und seine ätzende Aktion auf die Haut willen, sei es wegen der Suche nach der als Ausgangspunkt zu nehmenden Dosis.

Zur Entwicklung wählte ich die folgende Methode:

Das Gas, dessen ich benötigte, wurde von mir in einer Retorte entwickelt, welche trockenes Bleinitrat enthielt und bis zur Röte erhitzt wurde;

$$Pb\,(NO_3)_2 = Pb\,O + O + 2\,NO_2.$$

Das Gas, welches sich in der Retorte entwickelte, wurde nach und nach mit den üblichen Verfahren gesammelt und in gewöhnliche Glasballons übergeleitet, deren Raumgehalt der Menge der roten Dämpfe entsprach, welche ich alle halben Stunden in jede Inhalationskammer einführen mufste. Der das derart bemessene Gas bergende Ballon wurde in die Kammer gebracht und nach deren Verschlufs von aufsen mittels eines wohlgegebenen Gewichtes zertrümmert. Das Gas wurde dann der Luft der Kammer mittels des Ventilators beigemischt.

Diese Methode erschien mir, wennschon nicht die billigste, jedenfalls die sicherste, um in die Kammer das Versuchsgas in der gewollten Menge unter Vermeidung langer Manipulationen einzuführen.

Mit der wiederholt ausgeführten quantitativen Untersuchung, mit Lösungen auch von Schwefelsäure und Pottasche — Permanganat — vermochte ich festzustellen, dafs die eingeführte Gasmenge der gefundenen entsprach, und dafs das Gas während der halbstündigen Zufuhr nur wenig in den Kammern abnahm.

Was die Dosis anging, mit der die Untersuchungen zu beginnen waren, so machte ich, da in der Literatur nur die von Hirt festgelegten und weiter oben erwähnten bestehen, mit denselben einige Versuche.

Inhalationen von roten Dämpfen zu 1 %.

In eine Inhalationskammer führte ich 4 Meerschweinchen, 4 Kaninchen und 2 Tauben ein und dazu soviel Gas, dafs sich darin eine beständig mit 1 % roter Dämpfe gesättigte Atmosphäre ergab.

Die Tiere boten fast sofort nach der Einführung des Gases heftige Dyspnoe dar und verendeten, zur Seite fallend, in weniger als einer Stunde an Kollaps.

Bei der Autopsie fand ich alle Schleimhäute in hyperämischem Zustande und die Lungen kongestioniert mit ausgiebigen Lungenblutungen; beim Einschneiden derselben kam ein schaumiger, gelblich-rötlicher Schleim zum Vorschein.

Inhalationen roter Dämpfe zu 2 ‰.

Durch die erzielten Resultate überzeugt, dafs die von Hirt als für den Menschen unschuldige Dosis von 1 % dies durchaus nicht für die Tiere war, mit denen ich experimentierte, wiederholte ich die gleiche Probe mit der Dosis von 2 ‰. Weitere 4 Kaninchen und weitere 4 Meerschweinchen, sowie 2 Tauben wurden in eine andere Inhalationskammer gebracht, wo sie 6 Stunden lang am Tage mit einer eingeschobenen Ruhepause von 3 Stunden gehalten wurden. Schon von den ersten Stunden an wiesen die Tiere Dyspnoe auf, anfänglich Unruhe und später Niedergeschlagenheit, und am Ende des ersten Tages verendeten zwei Kaninchen und ein Meerschweinchen; am zweiten Tage erlagen alle übrigen Tiere unter den gleichen

oberwähnten Symptomen und bei der Autopsie erwiesen sich die Hornhäute geschwürig, die Lungen kongestioniert und mit grofsen und kleinen Hämorrhagien übersät, die ihnen das Aussehen von Stücken roten veronesischen Marmors gaben.

Inhalationen roter Dämpfe zu 0,5 ‰.

Fünf Kaninchen und fünf Meerschweinchen wurden der Einatmung von noch geringeren Gasmengen und zwar zu 0,5 ‰ unterworfen. Am ersten Tage blieben die Tiere unbeweglich, sie hockten schläfrig im Winkel; gegen das Ende des zweiten verschwand die Dyspnoe, und als man sie aus der Kammer herausnahm, verweigerten sie das Fressen; am dritten Tage verendeten zwei Kaninchen und zwei Meerschweinchen; am vierten starben alle anderen Kaninchen und ein anderes Meerschweinchen. Nachdem die Inhalationen eingestellt waren, blieben nur noch zwei Meerschweinchen am Leben, die jedoch gegen den sechsten Tag, obschon sie doch seit zwei Tagen kein Gas mehr einatmeten, ebenfalls starben. Bei der Autopsie ergaben sich die gleichen Tatsachen wie bei den früheren Versuchen, aufserdem hatte das Fell der Tiere seinen Glanz verloren und liefsen sich beim geringsten Ziehen grofse Büschel Haare lostrennen; bei mikroskopischer Betrachtung erwies sich auch eine starke Veränderung desselben in seiner anatomischen Beschaffenheit.

Inhalationen roter Dämpfe zu 0,1 ‰.

Den gleichen Versuch wiederholte ich, indem ich die Dosis von 0,1 ‰ verwendete, eine Dosis, die von den Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben ohne irgendwelche merkbare Störung eine Woche lang vertragen wurde; deshalb nahm ich mir vor, alle für die andern Gase durchgeführten Versuche mit dieser Dosis einzuleiten. Ich nahm deshalb neue Tiere herbei, und nachdem ich sie gewogen und der Blutprobe unterzogen hatte, unterwarf ich sie einen Monat lang durch 6 Stunden am Tage den Einatmungen von roten Dämpfen zu 0,1 ‰, dabei wie gewöhnlich jede halbe Stunde für neue Gaszufuhr in die Kammern nach vorausgegangener Ventilation der letzteren sorgend.

Tabelle XVI.

Blutprüfung und Wägung der Tiere vor und nach den Einatmungen der roten Dämpfe (0,1‰).

Versuchstiere	Vor den Einatmungen			Nach 30tägigen Einatmungen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	950	5 900 000	85	725	3 600 000	75
» 2	1020	6 000 000	70	900	5 100 000	60
» 3	1210	6 500 000	75	1080	6 000 000	70
» 4	1660	5 700 000	75	1020	5 000 000	70
» 5	1300	7 000 000	70	1160	6 100 000	70
» 6	1200	6 200 000	75	1110	5 800 000	60
» 7	1205	5 000 000	65	Stirbt am 15. Tage		
» 8	1360	6 700 000	70	1300	6 200 000	60
» 9	1530	6 100 000	75	1410	5 000 000	55
» 10	1760	6 000 000	70	1740	5 600 000	70
» 11	2020	6 400 000	75	1930	6 100 000	60
» 12	1890	7 000 000	80	1800	6 200 000	70
» 13	1080	5 800 000	70	1000	5 000 000	70
» 14	1130	6 400 000	70	Stirbt am 20. Tage		
» 15	1460	6 300 000	75	1310	5 600 000	68
» 16	1380	6 800 000	55	Stirbt am 12. Tage		
» 17	1630	6 200 000	65	1540	6 000 000	60
» 18	1465	5 200 000	70	1350	4 900 000	65
Meerschw. 1	450	7 000 000	85	400	6 000 000	80
» 2	420	6 300 000	75	400	5 600 000	60
» 3	490	6 800 000	75	420	6 000 000	60
» 4	410	7 000 000	65	355	6 200 000	65
» 5	390	5 800 000	65	350	5 000 000	60
» 6	525	7 000 000	80	485	6 100 000	60
» 7	635	6 100 000	80	580	5 700 000	75
» 8	435	5 800 000	75	400	4 000 000	60
» 9	430	6 900 000	75	385	6 000 000	65
» 10	510	6 100 000	60	Tot am 10. Tage		
» 11	480	7 000 000	65	450	6 200 000	60
» 12	575	5 600 000	70	560	5 800 000	70
» 13	600	6 600 000	80	545	6 000 000	70
» 14	475	7 000 000	75	400	6 200 000	55
» 15	540	6 100 000	70	510	6 000 000	60
» 16	635	5 800 000	75	600	4 900 000	60
» 17	390	5 100 000	65	340	4 500 000	60
» 18	470	6 700 000	80	410	5 400 000	75
» 19	410	7 000 000	60	400	6 500 000	60
» 20	480	5 600 000	75	460	5 500 000	70
» 21	360	4 700 000	70	Tot am 18. Tage		
» 22	420	5 700 000	70	400	5 000 000	70
» 23	485	6 100 000	75	Tot am 24. Tage		
» 24	505	6 000 000	60	475	6 000 000	55
Taube 1	410	5 000 000	—	400	5 000 000	—
» 2	480	5 200 000	—	460	5 000 000	—
3	505	4 600 000	—	490	4 500 000	—

Die Einatmungen roter Dämpfe zu 0,1 ‰, auf einen Monat ausgedehnt, brachten in den Meerschweinchen, Kaninchen und Tauben eine beträchtliche Gewichtsabnahme und somit eine Denutrition des Tieres hervor.

Auf 18 in Prüfung genommene Kaninchen kamen 8, welche eine Abnahme von zwischen 115 und 225 g darboten; die anderen 10 aber eine solche von 20 (ein einziges nur) bis 90 g; und an 24 Meerschweinchen liefs sich eine zwischen 15 und 75 g schwankende Abnahme beobachten. Nahezu das Gleiche ergab sich für die Tauben. Aufserdem übten auch derlei Inhalationen beträchtliche Veränderungen in der Blutzusammensetzung aus. Bei fast allen Tieren fand ich eine Verminderung sowohl der Zahl der roten Blutkörperchen als auch des Hämoglobingehaltes, niemals aber eine Vermehrung. Aus alledem ergibt sich also eine beachtenswerte Schädigung jener Tiere, welche derartige Inhalationen erlitten und um so deutlicher erweist sich dieselbe, wenn man auch die Tatsache hinzufügt, dafs von 45 Tieren, die solchen Inhalationen unterzogen wurden, 5 verendeten, bei deren Autopsie sich die gleichen Läsionen, nur in geringerem Grade, vorfanden, die bei den voraufgegangenen Vorversuchen erwiesen waren, weshalb aufser Zweifel steht, dafs die Inhalation des Gases die Todesursache war.

Bei der spektroskopischen Prüfung des Blutes dieser Tiere vermochte ich nichts Besonderes zu beobachten, da die beiden charakteristischen Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins immer klar zutage traten, auch das Blut im Aussehen keinerlei Wärmeveränderung zeigte.

Veränderungen des agglutinierenden Vermögens des Blutserums von gegen den Typhus immunisierten Tieren.

Diesmal wählte ich für meine Untersuchung sechs statt der üblichen vier Kaninchen, da mich der Zustand von Denutrition einiger derselben in Zweifel setzte, ob sie den Toxin-Inokulationen zu widerstehen vermöchten. Die befolgte Technik war die gleiche wie bei den voraufgegangenen Untersuchungen.

Tabelle XVII.

Tiere, welche rote Dämpfe zu 0,1‰ einatmeten					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in g	I. Inokulation v. Toxin 0,4 ccm für je 100 g	II. Inokulation v. Toxin 0,8 ccm für je 100 g	Agglutinierender Wert des Serums	Versuchstiere	Gewicht in g	I. Inokulation v. Toxin 0,4 ccm für je 100 g	II. Inokulation v. Toxin 0,8 ccm für je 100 g	Agglutinierender Wert des Serums
Kaninchen Nr. 1	725	3	5,5	tot	Kaninch. Nr. 1 bis	1130	4,5	9	1 : 2500
» » 2	900	3,5	7,5	1 : 1000	» » 2 »	1320	5	10	1 : 1900
» » 3	1080	4	8	1 : 900	» » 3 »	1000	4	8	1 : 2800
» » 4	1020	4	8	1 : 1400	» » 4 »	1070	4	8	1 : 3000
» » 5	1160	4,5	9	1 : 1100					
» » 6	1110	4,5	9	1 : 800					

Aus den Durchschnitten, die uns obige Zahlen ergeben, geht hervor, dafs die den Inhalationen roter Dämpfe unterzogenen Tiere einen agglutinierenden Wert ihres Serums ergaben, der gleich 1 : 1040 war, während die Kontrolltiere einen solchen von 1 : 2550 ergaben; daraus ergibt sich eine sehr bedeutende Abnahme in der Agglutininproduktion von seiten jener Tiere, welche die Gasinhalationen zu ertragen hatten.

Veränderungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums von gegen den Typhus immunisierten Tieren.

Tabelle XVIII.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,1‰) einatmeten.		Kontrolltiere.	
Versuchstiere	Serum-Titel	Versuchstiere	Serum-Titel
Meerschweinchen Nr. 1	0,20	Meerschweinchen Nr. 1 bis	0,05
» » 2 war nicht möglich, den Titel aufzufinden.		» » 2 »	0,10
Meerschweinchen Nr. 3	0,15	» » 3 »	0,10
» » 4	0,30	» » 4 »	0,05
» » 5	tot	» » 5 »	0,15
» » 6	0,20	» » 6 »	0,05

Auch bei dieser Untersuchung können die in der Tabelle vorgetragenen Resultate keinen Zweifel darüber lassen, dafs eine Herabsetzung der Produktion spezifischer Anti-

körper von seiten jener Tiere, welche 0,1‰ roter Dämpfe inhalierten, stattgefunden habe. Tatsächlich ergab sich für die Kontrolltiere ein Durchschnitt des Serumtitels von 0,08, während die Tiere, welche die Gasinhalationen erlitten, hingegen einen Durchschnitt von 0,21 darboten, wobei nicht in Betracht gezogen ist, dafs in einem der präparierten Meerschweinchen der Titel nicht aufzufinden war, und dafs ein anderes während des Versuches einging.

Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lunge.

Wie bei den vorausgegangenen Untersuchungen in betreff des Chlors und der schwefligen Säure wollte ich mich zunächst vergewissern, ob die roten Dämpfe im Verhältnis von 0,1‰ bei längerer Einwirkung den b. prodigiosus zu töten vermöchten.

Tabelle XIX.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge		Am ½ recht. unt. Lappen		Basis linker Lunge		Gesamtzahl der Kolonien von B. prodigiosus auf 1 ccm Lungen berechnet
		Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	
Tiere, welche rote Dämpfe (0,1‰) inhalierten:								
Meerschw. Nr. 7	Stunden 12	0,1	198	0,3	435	0,3	364	1420
» » 8	» 24	0,2	60	0,4	320	0,2	215	743
» » 9	» 36	0,1	102	0,5	186	0,3	280	608
» » 11	» 48	0,1	25	0,3	108	0,3	18	201
» » 12	60	0,2	60	0,2	200	0,3	84	491
» » 13	» 72	0,1	10	0,3	18	0,4	29	71
» » 14	» 96	0,2	4	0,4	0	0,3	6	11
Kontrolltiere:								
Meerschw. Nr. 7 bis	Stunden 12	0,2	98	0,4	264	0,2	162	655
» » 8 »	» 24	0,1	16	0,3	0	0,4	44	75
» » 9 »	» 36	0,2	36	0,5	52	0,3	16	104
» » 11 »	» 48	0,1	0	0,4	2	0,3	0	2
» » 12 »	» 60	0,2	0	0,5	0	0,4	0	0
» » 13 »	» 72	0,1	0	0,3	0	0,3	0	0
» » 14 »	» 96	0,1	0	0,4	0	0,2	0	0

Deshalb brachte ich in den das Gas enthaltenden Kammern die gewöhnlichen mit b. prodigiosus gesättigten Seidenfäden zur Aus-

setzung, Fäden, die ich nach einer Aussetzung von 100 Stunden in der Atmosphäre der Inhalationskammern zurückzog. Auf den mit diesen Seidenfäden gemachten Plättchen entwickelten sich überaus zahlreiche b. prodigiosus. Nachdem damit erwiesen war, dafs keinerlei schädlicher Einflufs der roten Dämpfe in der angegebenen Proportion auf den b. prodigiosus bestehe, ging ich unter Aufwendung der gewohnten Technik zu meiner Untersuchung über.

Aus der Prüfung der Tabelle ergibt sich, dafs das bakterizide Vermögen der Lungen in den Meerschweinchen, welche die roten Dämpfe einatmeten, bedeutend verringert ist, denn während sich in den Lungen derselben der b. prodig. stets in einer wesentlich höheren Zahl vorfand als in den Lungen der Kontroll-Meerschweinchen, ist er auch längere Zeit darin verblieben, da sich seine Keime in bedeutender Anzahl auch nach 60, 72 und 96 Stunden von der Inhalation an gerechnet noch vorfanden, was sich bei den Kontrolltieren nicht ergab, in deren Lungen der b. prodig. in etwa 48 Stunden völlig vernichtet war.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulentem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,1 ‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 8 — stirbt nach 48 Stunden.	Kaninchen Nr. 8 bis — stirbt nach 101 Stunden.
Kaninchen Nr. 9 — stirbt nach 53 Stunden.	Kaninchen Nr. 9 bis — stirbt nach 108 Stunden.
Kaninchen Nr. 15 — stirbt nach 36 Stunden.	Kaninchen Nr. 15 bis — stirbt nach 96 Stunden.
Kaninchen Nr. 16 — stirbt nach 41 Stunden.	Kaninchen Nr. 16 bis — stirbt nach 79 Stunden.

Fränkelscher Diplokokkus.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,1 ‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 10 — stirbt nach 50 Stunden.	Kaninchen Nr. 10 bis — stirbt nach 96 Stunden.
Kaninchen Nr. 11 — stirbt nach 41 Stunden.	Kaninchen Nr. 11 bis — stirbt nach 110 Stunden.
Kaninchen Nr. 12 — stirbt nach 62 Stunden.	Kaninchen Nr. 12 bis — stirbt nach 100 Stunden.

Typhus.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,1 °/₀₀) inhalierten.	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 17 — stirbt nach 26 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 17 bis — stirbt nach 48 Stunden.
Meerschweinchen Nr. 18 — stirbt nach 32 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 18 bis — stirbt nach 52 Stunden.
Meerschweinchen Nr. 19 — stirbt nach 24 Stunden.	Meerschweinchen Nr. 19 bis — stirbt nach 64 Stunden.

Tuberkulose (Lungen-Innest).

Tiere, welche rote Dämpfe (0,1 °/₀₀) inhalierten.	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 20 — stirbt nach 45 Tagen — schwere u. allgemeine Lungentuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 20 bis — stirbt nach 122 Tagen — diffuse Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 22 — stirbt nach 68 Tagen — schwere u. allgemeine Lungentuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 22 bis — wird nach 122 Tagen getötet — die Autopsie ergibt nichts Pathologisches.
Meerschweinchen Nr. 24 — stirbt nach 66 Tagen — schwere u. allgemeine Lungentuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 24 bis — stirbt nach 101 Tagen — diffuse Tuberkulose.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächtem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Die Abschwächung der Kulturen wurde, wie bei den früheren Untersuchungen, durch Wärme erzielt.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,1 °/₀₀) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 13 — stirbt nach 150 Stunden.	Kaninchen Nr. 13 bis — keine merkbaren Symptome.
Kaninchen Nr. 15 — stirbt nach 180 Stunden.	Kaninchen Nr. 15 bis — keine merkbaren Symptome.

Fränkelscher Diplokokkus.

Die tödliche Minimaldosis der verwendeten Bouillonkultur betrug für das Kaninchen 1½ ccm. Den Versuchstieren wurden 0,75 ccm der Kultur inokuliert.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,1 °/₀₀) inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 17 — stirbt nach 80 Stunden.	Kaninchen Nr. 17 bis — keine Symptome

Kaninchen Nr. 18 — stirbt nach 200 Stunden. Bei der Blutprüfung des letzteren wird jedoch der Diplokokkus nicht angetroffen.	Kaninchen Nr. 18 bis — keine Symptome.

Verhalten der immunen Tiere gegenüber der Inokulation von für rezeptive Tiere virulentem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,1‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Taube Nr. 1 — bleibt 2 Tage krank, dann erholt sie sich wieder.	Taube Nr. 1 bis — keine Symptome.
Taube Nr. 2 — stirbt nach 102 Stund.	» Nr. 2 bis — » »
Taube Nr. 3 — ist 2 Tage krank, dann erholt sie sich wieder.	» Nr. 3 bis — » »

Die Inokulationen von virulentem Virus in rezeptive Tiere führten zu Ergebnissen, die sich mit denen der früheren Versuche decken.

Was den hämatischen Milzbrand angeht, so erlagen die Kaninchen und die Meerschweinchen, welche das Gas einatmeten, weit schneller als die Kontrolltiere und zwar mit einer Differenz von durchschnittlich 48 Stunden. Ähnliche Resultate ergaben sich für den Fränkelschen Diplokokkus und für den Typhus; bei der Tuberkulose (Lungen-Innest) schliefslich beobachtete ich, dafs, während die den Inhalationen unterzogenen Tiere in einem zwischen 45 und 68 Tagen schwankenden Zeitraum an schwerer und allgemeiner Lungenschwindsucht starben, die Kontrolltiere hingegen in einem Zeitraum von 101 bis 122 Tagen eingingen.

Die Inokulationen von abgeschwächtem Virus in rezeptive Tiere (hämatischer Milzbrand, Fränkelscher Diplokokkus) hatten den Tod der Tiere zur Folge, welche die roten Dämpfe einatmeten, während alle Kontrolltiere überlebten.

Bei den immunen Tieren liefs sich schliefslich feststellen, dafs von drei mit virulentem hämatischen Milzbrand inokulierten Tauben, welche das Gas inhalierten, eine in 102 Stunden starb,

die anderen zwei jedoch einige Tage krank waren und dann sich erholten, während von den Kontrolltieren kein einziges irgendwelche Störung erlitt.

Zum Schlusse kommend müssen wir also sagen, daſs die mit den Einatmungen roter Dämpfe zu 0,1 ‰ erhaltenen Resultate nahezu denen der schwefligen Säure zu 0,5 ‰ gleichkommen; in der Tat bringen die länger dauernden Einatmungen roter Dämpfe zu 0,1 ‰ in den Tieren hervor:

I. Eine Abnahme des Gewichts, der Zahl der roten Blutkörperchen und der Hämoglobinmenge des Blutes.
II. Eine Abnahme in der Produktion von besonderer agglutinierender Substanz.
III. Eine Abnahme in der Produktion spezifischer bakterizider Substanzen.
IV. Eine Abnahme des bakteriziden Vermögens der Lungen.
V. Einen verminderten Widerstand gegenüber den infektiven Agentien seitens der rezeptiven Tiere.
VI. Verlust der natürlichen Immunität seitens der immunen Tiere infolge der Inokulation von virulentem Virus.

Inhalationen von roten Dämpfen zu 0,05 ‰.

Infolge der mit 0,1 ‰ erzielten Resultate hielt ich es für angezeigt, die gleichen Versuche mit der Dosis von 0,05 ‰ zu wiederholen, immer mit dem Zwecke, die Maximalgasmenge anzutreffen, welche eingeatmet werden kann, ohne daſs dieselbe — auch bei länger dauernder Einwirkung — eine Herabsetzung im Widerstand gegenüber den Infektionskrankheiten von seiten des Organismus herbeizuführen vermöchte.

Wie bei der schwefligen Säure, so fasse ich auch hier in den folgenden Tabellen die Ergebnisse der Versuche zusammen, um schlieſslich die relativen Schlüsse daraus zu ziehen.

Tabelle XX.

Blutprüfung und Gewicht der Tiere vor und nach den Inhalationen roter Dämpfe (0,05 ‰).

Versuchstiere	Vor den Inhalationen			Nach 30 Tagen Inhalation		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	1360	7 000 000	75	1370	6 600 000	75
» 2	1280	6 400 000	70	1260	6 000 000	70
» 3	1200	6 100 000	70	1225	6 300 000	70
» 4	1315	4 800 000	75	1320	6 000 000	65
» 5	1460	5 600 000	60	1435	6 100 000	60
» 6	1630	6 700 000	65	1660	6 000 000	65
» 7	1125	6 000 000	70	1100	6 700 000	60
» 8	1740	4 500 000	70	1700	6 100 000	65
» 9	1475	6 800 000	75	1480	6 500 000	70
» 10	1610	5 600 000	80	1600	6 100 000	70
» 11	1200	6 100 000	80	1230	6 400 000	75
» 12	1340	5 900 000	75	1365	6 000 000	65
» 13	1460	5 500 000	55	1430	6 200 000	50
» 14	1180	6 000 000	60	1210	6 100 000	60
» 15	1265	6 600 000	65	1235	6 400 000	60
Meerschw. 1	460	5 600 000	70	475	6 000 000	60
» 2	480	6 200 000	60	485	6 000 000	60
» 3	320	6 000 000	65	300	5 800 000	60
» 4	515	7 000 000	80	500	6 700 000	70
» 5	600	6 800 000	80	580	6 100 000	75
» 6	465	4 600 000	65	470	5 800 000	65
» 7	530	6 000 000	60	540	6 000 000	60
» 8	580	5 400 000	70	570	6 000 000	60
» 9	310	6 600 000	55	300	6 100 000	60
» 10	380	6 000 000	65	355	5 400 000	60
» 11	395	5 300 000	70	400	5 900 000	65
» 12	475	5 900 000	70	470	5 500 000	70
» 13	410	6 400 000	55	400	6 000 000	65
» 14	375	6 700 000	70	380	5 900 000	70
» 15	425	7 000 000	75	400	6 500 000	70
» 16	485	5 600 000	70	500	6 000 000	60
» 17	560	6 500 000	80	550	6 200 000	70
» 18	500	6 100 000	70	510	6 300 000	70
» 19	360	5 000 000	65	340	5 600 000	55
» 20	400	6 200 000	70	410	6 000 000	65
Taube 1	580	4 300 000	—	590	5 000 000	—
» 2	600	5 000 000	—	590	5 800 000	—
» 3	500	5 100 000	—	530	5 600 000	—

Veränderungen des agglutinierenden Vermögens des Blutserums von gegen den Typhus immunisierten Tieren.

Tabelle XXI.

Tiere, welche rote Dämpfe zu 0,05 ‰ 1 Monat lang inhalierten					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in g	I. Inokulation v. 0,4 ccm Toxin für je 100 g	II. Inokulation v. 0,6 ccm Toxin für je 100 g	Agglutinierender Wert des Serums	Versuchstiere	Gewicht in g	I. Inokulation v. 0,4 ccm Toxin für je 100 g	II. Inokulation v. 0,6 ccm Toxin für je 100 g	Agglutinierender Wert des Serums
Kaninchen 1	1370	5,5	8	1 : 1500	Kaninch. 1 bis	1200	5	7,5	1 : 2000
» 2	1260	5	7,5	1 : 1000	» 2 »	1110	4,5	7	1 : 1500
» 3	1225	5	7,5	1 : 1600	» 3 »	1390	5,5	8,5	1 : 1200
» 4	1320	5	8	1 : 1800	» 4 »	1400	5,5	8,5	1 : 1300

Veränderungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums von gegen die Typhusinfektion immunisierten Tieren.

Tabelle XXII.

Tiere, welche rote Dämpfe zu 0,05 ‰ einen Monat lang inhalierten.

Versuchstiere	Serumtitel
Meerschweinchen Nr. 1	0,10
» » 2	0,15
» » 3	0,05
» » 4	0,05
» » 5	0,10
» » 6	0,05

Kontrolltiere.

Versuchstiere	Serumtitel
Meerschweinchen Nr. 1 bis	0,05
» » 2 »	0,05
» » 3 »	0,10
» » 4 »	0,10
» » 5 »	0,10
» » 6 »	0,05

Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Tabelle XXIII.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenstücke: Apix rechter Lunge — Geprüft. Vol. in ccm	Apix rechter Lunge — Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	am 1/2 recht. unt. Lappen — Geprüft. Vol. in ccm	am 1/2 recht. unt. Lappen — Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Basis linker Lunge — Geprüft. Vol. in ccm	Basis linker Lunge — Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Gesamtzahl der Kolonien von B. prodig., auf 1 ccm Lunge berechnet
Tiere, welche einen Monat lang rote Dämpfe (0,05 ‰) inhalierten.								
Meerschw. Nr. 7	Stunden 12	0,1	104	0,5	293	0,4	178	575
» » 8	» 24	0,2	18	0,3	47	0,3	60	156
» » 9	» 36	0,2	4	0,3	12	0,3	2	22
» » 10	» 48	0,1	0	0,4	0	0,3	0	0
» » 11	» 60	0,2	0	0,2	0	0,3	0	0
» » 12	» 72	0,1	0	0,3	0	0,4	0	0
Kontrolltiere.								
Meerschw. Nr. 7 bis	Stunden 12	0,2	194	0,3	265	0,3	140	748
» » 8 »	» 24	0,2	92	0,3	160	0,4	27	310
» » 9 »	» 36	0,1	10	0,3	0	0,3	36	65
» » 10 »	» 48	0,1	0	0,3	1	0,3	0	1
» » 11 »	» 60	0,2	0	0,4	0	0,2	0	0
» » 12 »	» 72	0,3	0	0,3	0	0,3	0	0

Verhalten der gegenüber der Inokulation von virulentem Vitrus rezeptiven Tiere.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,05 ‰) inhalierten.

Kaninchen Nr. 5 — stirbt nach 100 Stunden

Kaninchen Nr. 6 — stirbt nach 184 Stunden

Kaninchen Nr. 13 — stirbt nach 39 Stunden

Kaninchen Nr. 14 — stirbt nach 45 Stunden

Kontrolltiere.

Kaninchen Nr. 5 bis — stirbt nach 92 Stunden

Kaninchen Nr. 6 bis — stirbt nach 94 Stunden

Kaninchen Nr. 13 bis — stirbt nach 36 Stunden

Kaninchen Nr. 14 bis — stirbt nach 56 Stunden

Fränkelscher Diplokokkus.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,05 ‰) inhalierten.

Kaninchen Nr. 7 — stirbt nach 46 Stunden

Kaninchen Nr. 8 — stirbt nach 62 Stunden

Kaninchen Nr. 9 — stirbt nach 58 Stunden

Kontrolltiere.

Kaninchen Nr. 7 bis — stirbt nach 56 Stunden

Kaninchen Nr. 8 bis — stirbt nach 50 Stunden

Kaninchen Nr. 9 bis — stirbt nach 52 Stunden.

Typhus.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,05 ‰) inhalierten.

Meerschweinchen Nr. 15 — stirbt nach 61 Stunden

Meerschweinchen Nr. 16 — stirbt nach 52 Stunden

Kontrolltiere.

Meerschweinchen Nr. 15 bis — stirbt nach 58 Stunden

Meerschweinchen Nr. 16 bis — stirbt nach 60 Stunden.

Tuberkulose (Lungen-Innest).

Tiere, welche rote Dämpfe (0,05 ‰) inhalierten.

Meerschweinchen Nr. 17 — stirbt nach 92 Tagen an diffuser Tuberkulose

Meerschweinchen Nr. 18 — stirbt nach 109 Tagen an diffuser Tuberkulose

Meerschweinchen Nr. 19 — stirbt nach 86 Tagen an schwerer und diffuser Lungentuberkulose

Meerschweinchen Nr. 20 — stirbt nach 89 Tagen an diffuser Tuberkulose

Kontrolltiere.

Meerschweinchen Nr. 17 bis — stirbt nach 102 Tagen an generalisierter Tuberkulose

Meerschweinchen Nr. 18 bis — stirbt nach 81 Tagen an generalisierter Tuberkulose

Meerschweinchen Nr. 19 bis — stirbt nach 96 Tagen an generalisierter Tuberkulose

Meerschweinchen Nr. 20 bis — stirbt nach 100 Tagen an generalisierter Tuberkulose.

Verhalten der gegenüber der Inokulation von abgeschwächtem Virus rezeptiven Tiere.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,05 ‰) inhalierten.

Kaninchen Nr. 10 — keine Symptome
» » 11 — » »
» » 12 — » »

Kontrolltiere.

Kaninch. Nr. 10 bis — keine Symptome
» » 11 » — » »

Fränkelscher Diplokokkus.

Die tödliche Minimaldosis der verwendeten Kulturen betrug 2 ccm. Die Tiere wurden mit 1 ccm Kultur inokuliert.

Kaninchen Nr. 13 — keine Symptome	Kaninchen Nr. 13 bis — keine Symptome
» » 14 — » »	Kaninchen Nr. 14 bis — keine Symptome.
» » 15 — » » verweigert einen Tag lang das Fressen	

Verhalten der immunen Tiere gegenüber der Inokulation von für rezeptive Tiere virulentem Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche rote Dämpfe (0,05 ‰) inhalierten.	Kontrolltiere.
Taube Nr. 1 — keine Symptome	Taube Nr. 1 bis — keine Symptome
» » 2 — » »	» » 2 » — » »
» » 3 — » »	

Aus dem Studium der Tabellen, welche die Ergebnisse der Untersuchungen zusammenfassen, die an den Tieren vorgenommen wurden, welche den Inhalationen von roten Dämpfen zu 0,05 ‰ einen Monat lang unterworfen wurden, ergeben sich uns die folgenden Tatsachen: Die Kaninchen, die Meerschweinchen und die Tauben hatten keinerlei bemerkenswerte Veränderungen im Hinblick auf die Ernährung zu erleiden, denn wenn auch einige während der Versuche im Gewicht um wenige Gramm zurückgingen, so nahmen hingegen viele andere zu; ebensowenig in bezug auf die Zahl der roten Blutkörperchen, die sich in allen Tieren fast gleich erhielt, mit Ausnahme etlicher kleiner Unterschiede, die mehr den Apparaten zuzuschreiben sind, welche wir für derlei Untersuchungen zur Verfügung haben, als einer wirklichen und beständigen Abnahme derselben.

Etwas minder zusammenstimmende Tatsachen haben wir hingegen im Hinblick auf die Hämoglobinmenge des Blutes beobachtet. Von 35 in Prüfung genommenen Tieren boten 21 nach den Gaseinatmungen eine Abnahme an Hämoglobin am Fleischlschen Hämometer dar, welche Abnahme zwischen 5 und 10 Graden der Skala variierte; 12 derselben boten keinerlei

Veränderung dar und 2 eine geringe Zunahme. In Wirklichkeit bin ich, da die Abnahme des Hämoglobins nicht sehr bedeutend ist und nicht in allen Tieren angetroffen wurde, wenn ich auch der Tatsache an sich gedenke, nicht sicher, bestätigen zu können, dafs ein derartiger geringer Unterschied ausschliefslich von den Inhalationen der roten Dämpfe zu 0,05‰ herzuleiten sei, auch darum nicht, weil keine andere abschätzbare Differenz erwiesen ward, wie wir in der Folge in den anschliefsenden Versuchen sehen werden.

In der Tat ergibt sich uns in bezug auf die Veränderungen des agglutinierenden Vermögens des Blutserums der gegen den Typhus immunisierten Tiere, dafs, während die den Gasinhalationen unterworfenen Tiere einen Durchschnitt des agglutinierenden Wertes ihres Serums von 1 : 1475 ergaben, die Kontrolltiere einen fast gleichen Durchschnitt von 1 : 1500 erbrachten, und so ergab sich für das immunisierende Vermögen der Durchschnitt des Serumtitels für die Tiere, welche Gas einatmeten, mit 0,08 und für die Kontrolltiere mit 0,07.

Analoge Tatsachen treffen wir auch im Bereich des Studiums des bakteriziden Vermögens der Lungen; die ungen der Meerschweinchen, welche den Innest des b. prodig. erhielten, und zwar sowohl diejenigen der präparierten wie der Kontrolltiere, erwiesen sich stets fähig, alle eingeatmeten Bazillen in etwa 48 Stunden zu vernichten. Darauf zum direkten Studium der Infektionen übergehend, erkennen wir noch, dafs die Inokulationen von virulentem Virus (von hämatischem Milzbrand, von Fränkels Diplokokkus, von Typhus, von Tuberkulose) in rezeptive Tiere im Hinblick auf den Verlauf der Krankheiten und die zwischen der Inokulation des Virus und dem Tode verlaufene Zeit keine Unterschiede zwischen den Tieren, welche das Gas einatmeten und den Kontrolltieren ergaben; auch die Inokulationen derselben — Virus in abgeschwächter Form (hämatischer Milzbrand und Fränkelscher Diplokokkus) bewirkten den Tod der Versuchstiere nicht; ein einziges Kaninchen (Nr. 15), das mit Diplokokkus inokuliert war, verhielt sich einen Tag mifsmutig und verweigerte das Fressen, welche vereinzelte Tatsache keine direkten Schlüsse erlaubt.

Endlich führten auch die Inokulationen von virulentem Virus in immune Tiere zu keiner Wirkung; weder die Tiere, welche Gas einatmeten, noch die Kontrolltiere erlitten irgendwelche Störung infolge dieser Inneste.

Zum Schlusse kommend darf man also sagen, dafs die Einatmung der roten Dämpfe auch durch längere Zeit und im Verhältnis von 0,05‰ in den Tieren keinerlei Veränderung in den Verteidigungskräften des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten hervorbringt; und aufserdem können wir hinzufügen, ob die früher mit gröfseren Dosen gemachten Versuche, dafs die Quantität von 0,05‰ in gewissen Grenzen die Maximalmenge darstellt, die derlei Störungen nicht hervorbringt, während die Dosis von 1 oder 2%, welche Hirt als harmlos bezeichnet, und die in allen Werken wiedergegeben wird, wenigstens im Hinblick auf den Menschen nicht gültig ist, da sie sich für die von mir in Versuch gestellten Tiere von so gewaltiger giftiger Wirkung erwies.

Dergestalt an den Schlufs des ersten Teils meiner Untersuchungen gelangt, d. h. also nachdem ich den Einflufs studiert habe, welchen die Inhalationen jener irritierenden Gase, die sich besonders ausgiebig und häufig in den Industriebetrieben entwickeln (Chlor, schweflige Säure, rote Dämpfe) auf die Produktion spezifischer Antikörper und auf die Prädisposition zu den infektiven Krankheiten ausüben, und nach erfolgter Suche nach der Maximalgasmenge, die ohne Schaden in dieser Beziehung eingeatmet zu werden vermag, halte ich es unter Anlehnung an die oben erwähnten Versuche für angezeigt, die folgenden allgemeinen Schlüsse zu ziehen:

I. Die länger dauernden Inhalationen, die beim Chlor die Proportionen von 0,002‰, bei der schwefligen Säure diejenigen von 0,05‰ und bei den roten Dämpfen jene von 0,05‰ überschreiten, bringen in den Tieren hervor:

a) eine allgemeine Abnahme der Nutrition und eine Veränderung der hauptsächlichsten Blutbestandteile;
b) eine Abnahme in der Produktion von spezifischen Antikörpern und im bakteriziden Vermögen der Lungen;
c) bei den rezeptiven Tieren eine Widerstandsverminderung gegenüber den infektiven Agentien;
d) in den immunen Tieren die Rezeptivität für die Infektionen.

II. Die länger währenden Inhalationen, welche die Proportionen von 0,002‰ für das Chlor, von 0,05‰ für die schweflige Säure und von 0,05‰ für die roten Dämpfe nicht überschreiten, bringen keinerlei bemerkenswerte Veränderungen in der Nutrition und in den hauptsächlichsten Blutbestandteilen hervor, noch sind sie imstande, irgendwelche Wandlung in den Verteidigungskräften des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten hervorzubringen; diese Dosen stellen also die Maximalmengen dar, die von den Tieren ohne Schaden ertragen werden.

Wie diese Gase in höheren Proportionen als den vorgenannten auf den Organismus wirken, um ihn für Infektionen zu prädisponieren, ist schwer zu sagen.

Di Mattei ist bezüglich der von ihm studierten giftigen Gase (CO_2 — CO — H_2S — CS_2) der Meinung, dafs die Prädisposition für die Infektionskrankheiten an die alterierte funktionelle Integrität der Gewebe und der Organe gebunden sei, eine Alteration, die natürlich auf Schleichwegen den Stoffwechsel in einer Weise stören mufs, dafs der gesamte Organismus nach mehr oder minder langer Zeit die üblen Folgen der geänderten Nutrition erleidet; üble Folgen, welche zum Endausgang den organischen Verfall haben, der den Organismus immer schwächer und somit immer geneigter für das Anhaften infektiver Krankheiten macht.

Es ist dies die einzige Erklärung, die man mit unserer Erkenntnis den Tatsachen geben kann, die wir auch für die Inhalation der von mir studierten irritierenden Gase zutage förderten.

Wie nun diese innersten Alterationen der Zellen der verschiedenen Gewebe, die biochemischen Modifikationen derselben und die nachfolgende Störung des funktionellen Gleichgewichts sich ergeben, darüber Klarheit zu geben, besitzen wir noch nicht die geeigneten Mittel.

Möge einstweilen die klinische Forschung sehen, inwieweit die mit den Tierversuchen erhaltenen Resultate auf den Menschen angewendet werden können und mit ihrer Beihilfe möge der Gesetzgeber dann Sorge tragen für das Leben der Arbeiter innerhalb der Fabriken, sie schützen vor den zahlreichen Gefahren, die ihnen darin drohen.

Bibliographie.

Albrecht, Handbuch der Praktischen Gewerbehygiene. Berlin 1896.

Böhm, Intoxikationen durch Säuren. Ziemssens Handbuch der Pathologie. Bd. XV. Leipzig 1880.

Deutsch, Contribution à l'étude de l'origine des anticorps typhiques. Annales de l'Institut Pasteur 1889.

Di Mattei, Sulla predisposizione alle malattie infettive per l'inalazione dei gas e vapori nocevoli. Parte I[a] Gas venefici. Annali d'Igiene sperimentale 1896.

Eulemberg, Gewerbehygiene, 1870.

— Die Lehre von schädlichen und giftigen Gasen. Braunschweig 1865.

Graziani, Influenza della temperatura ambiente e bagno freddo sulla produzione di sostanza agglutinante negli animali immunizati per il tifo. Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche 1906.

Hirt, Die Gasinhalationskrankheiten und die von ihnen besonders heimgesuchten Gewerbe und Fabrikbetriebe. Breslau und Leipzig 1873.

Lehmann, Experimentelle Studien über den Einfluſs technisch und hygienisch wichtiger Gase, Dämpfe auf den Organismus. Archiv für Hygiene. Bd. V, VII, XVIII.

— Experimentelle Untersuchungen über die Gewöhnung an Fabrikgase. Archiv für Hygiene. Bd. XXXIV.

— Wieviel Chlor nimmt ein Hund in einer Chloratmosphäre auf und auf welchem Wege? Archiv für Hygiene. Bd. XXXIV.

Lassar, Über irrespirable Gase. Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. I.

Kifskalt, Über den Einflufs der Inhalation schwefliger Säure auf die Entwicklung der Lungentuberkulose. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XLVIII.

Kobert, Handbuch des öffentlichen Gesundheitswesens. Berlin 1881.

Mehlhaussen, citato dall' Hirt (v. Hirt).

Ogata, Über die Giftigkeit der schwefligen Säure. Archiv für Hygiene. Bd. II.

Pieraccini, Patologia del lavoro e terapia sociale. Milano 1906.

Pinkenburg, Der Lärm in den Städten und seine Verhinderung. Weyl, Handbuch der Hygiene. Jena 1899.

Poincaré, Traité d'Hygiène industrielle. Paris 1886.

Revelli, Igiene industriale e pulizia sanitaria delle manifatture, fabbriche e depositi. Torino 1897.

Ronzani, Über das Verhalten des bakteriziden Vermögens der Lungen gegenüber einigen Ursachen, die dasselbe zu modifizieren vermögen. — Archiv für Hygiene, Bd. LXIII.

— Azióne della polvere di carbone sui microorganismi, con speciale riguardo allo sviluppo della tubercolosi nei polmoni antracotici. Annali d'Igiene sperimentale 1905.

Reinholdt, Über schwere Anämie mit Hyperglobulie als Folgezustand chronischer Kohlenoxydvergiftung. Münch. med. Wochenschr. 1904.

Zur Ätiologie der Impetigo contagiosa.

Von

Dr. med. **Nakao Abe.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kyoto.
Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.)

Durch Tilburg Fox[1]) Untersuchungen aus dem Jahre 1864 und 1869 kennen wir die Impetigo contagiosa als eine wohlcharakterisierte übertragbare Hautaffektion.

Um die Erforschung der Ursache dieser Affektion haben sich schon zahlreiche Autoren bemüht. Es scheint mir aber, dafs diese Frage noch nicht ganz aufgeklärt worden ist.

Die Ergebnisse älterer Untersucher, wie Kohn[2]), Behrendt[3]) u. a., welche Hyphomyzeten als Erreger ansprachen, werden von neueren Autoren nicht mehr festgehalten.

Nach Bockhardt[4]) sind Impetigo, Furunkel und Sykosis in ihrem Wesen völlig gleiche Krankheiten, insofern sie durch dieselbe Krankheitsursache, die Einwanderung des Staphylococcus pyogenes aureus und albus hervorgerufen werden; sie sollen demnach nur verschiedene Formen, Grade eines und desselben Krankheitsprozesses darstellen.

1) Fox, British Medical Journal 1864. Journal of Cutan. med. 1869.
2) Kohn, Wiener med. Presse 1871.
3) Behrendt, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 48, 1884.
4) Bockhardt, Monatshefte für praktische Dermatologie, Nr. 11, 1887.

Davalos[1]) teilte mit, dafs der Erreger der Impetigo der sog. Bac. pseudodiphthericus ist; dieser soll durch das Zusammenleben mit dem Eiterkokkus virulent geworden sein.

Kurth[2]) hat dagegen einen Streptokokkus als Erreger der Impetigo contagiosa angegeben.

Im Jahre 1899 hat Blaschko[3]) auch aus Blaseninhalt von Impetigo immer einen Mikroorganismus reingezüchtet, der mikroskopisch und kulturell dem echten Staphylococcus pyogenes aureus oder albus gleicht. Sein Schüler Kaufmann[4]) hat diesen Mikroorganismus genauer untersucht. Im Blaseninhalt von 23 Kranken fanden sich mikroskopisch stets Diplokokken, etwas abgeplattet, oft kleine Kettchen oder Träubchen bildend, mitunter in Zellen liegenden Gonokokken ähnlich. Auf verschiedenartigen Nährböden wuchsen diese Mikroorganismen fast stets in Reinkultur bei der ersten Impfung. Die Farben der kleinen runden Kolonien waren meist grauweifs; aus einigen Blasen wuchsen sie gelb. Beim Menschen gelang es nicht, durch blofses Verreiben einer Kultur auf der Haut eine Impetigoblase zu erzeugen, auch nicht durch Impfung, wie bei der Vakkination, wohl aber nach Aufkratzen der Haut mit dem scharfen Löffel und dem Schützen der Impfstelle gegen Abwischen. Kaufmann glaubt auf Grund der verschiedenen Untersuchungen den Kokkus der Impetigo contagiosa vom Staphylococcus pyogenes aureus und albus sicher unterscheiden zu können, da die Kolonien auf Agar, Serum und Sabourands Nährböden kleiner, matter glänzend, weniger kohärent sind und Milch rascher koaguliert wird; in Bouillon ist mehr Neigung zur Kettenbildung vorhanden; die Stichkultur in Gelatine zeigt geringere, mehr kegelförmige Verflüssigung; die Widerstandsfähigkeit ist geringer als bei echten Staphylokokken. Auf Menschen geimpft, erregt er Blasen von überwiegend serösem Inhalt, nicht wie die anderen

1) Davalos, Zentralblatt für Bakteriologie. I. Abt., Bd. 17, S. 38, 1895.
2) Kurth, Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 8, S. 294, 1893.
3) Blaschko, Ref. aus d. Archiv f. Dermat. u. Syphil., Bd. 49, S. 298.
4) Kaufmann, Archiv f. Dermat. u. Syphil., Bd. 49, S. 297, 1899.

eitrigen Blasen oder Furunkel. Auch für Kaninchen ist er weniger virulent als echte Staphylokokken. In der jüngsten Zeit haben Dohi und Kurita[1]) auch ähnliches beobachtet.

Augenblicklich gelten als Urheber der Impetigo contagiosa Spaltpilze; doch herrscht grofse Unklarheit darüber, ob es sich um Streptokokken, wie Kurth, Brochet u. a. wollten, oder Staphylococcus pyogenes aureus und albus (Pogge, Bousquet, Leloir, Bockhart, Dupray, Wikham, Matzenauern, Engmann u. a.) oder um einen spezifischen Mikroorganismus (Unna, Kaufmann, Dohi-Kurita etc.) handle.

Während meiner Reise nach Satsuma in Süd-Japan (im Jahre 1906) habe ich eine kleine Epidemie der Impetigo contagiosa beobachtet und untersuchte mikroskopisch den Inhalt der Blasen von einigen Patienten. Das Bild war: meist mehrkernige, spärliche Leukozyten; dann ovale Diplokokken, teils intra-, teils extrazellulär sichtbar.

Um Abimpfungen auf Nährböden zu ermöglichen, habe ich zuerst sorgfältig mit Sublimat, Alkohol und Äther die Haut desinfiziert, die Blasen mit einer vorher ausgeglühten Pinzette und Schere geöffnet und den mit einer Platinöse gewonnenen Inhalt auf den Nährboden verteilt. Es entwickelten sich stets regelmäfsig zwei verschiedene grauweifse und gelbe kleine feuchtglänzende Kolonien. Beide waren Mikrokokken, welche mit den gebräuchlichen Farbstoffen gut färbbar sind. Sie sind nach Gram ebenso gut färbbar; jedoch entfärben sich die mehr als 5 Tage lang auf Nährböden kultivierten Kokken manchmal. Die auf Nährböden gezüchteten Mikroben sind unbewegliche, geifsellose, runde, 0,5—0,8 μ grofse Kokken, die entweder einzeln, meist aber zu zweien vorkommen oder selbst traubenförmige Häufchen oder kurze Ketten bilden.

Die Kulturversuche ergeben dasselbe Resultat wie beim Mikrokokkus pyogenes aureus oder albus. Es ist kaum möglich, beide Mikroben voneinander zu unterscheiden. Entgegen den Kaufmannschen Anschauungen finde ich oft bei Impetigo-

1) Dohi und Kurita, japanische Zeitschrift für Dermatologie und Urologie, Bd. 4, S. 191, 1904.

Contagiosa-Kokken keine Koagulation der Milch; Micrococcus pyogenes aureus und albus besitzen manchmal eine Verflüssigungsform der Gelatine wie bei Impetigo-Contagiosa-Kokken, die Figur eines langen schmalen, an der Spitze etwas abgestumpften Kegels bildend. Der Unterschied in der Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Momente ist zwischen Impetigo-Contagiosa-Kokken und Eiterkokken nicht sehr grofs, jedoch ist ersterer etwas empfindlicher als letzterer, indem Impetigo-Contagiosa-Kokken nach 2—3 Monaten nicht mehr abimpfbar sind, während Eiterkokken nach 100 Tagen lebendig bleiben. Ferner besitzen Impetigo-Contagiosa-Kokken Widerstandsfähigkeit gegen:

Direktes Sonnenlicht: sie sind nach 30 Minuten noch lebendig, aber nach 45 Minuten abgestorben.

Karbolsäure: in 5proz. Lösung nach 2 Minuten, in 1proz. Lösung nach 30 Minuten, in 0,5proz. Lösung nach 8 Stunden abgestorben, während sie in 0,1 und 0,05 proz. Lösung nach 24 Stunden noch lebendig bleiben.

Sublimat: in 0,5—1,0 proz. Lösung sofort, in 0,1 proz. Lösung nach 5 Minuten, in 0,05 proz. Lösung nach 10 Minuten abgestorben.

Lysol: in 1—5 proz. Lösungen sofort, in 0,5 proz. Lösung nach 15 Minuten, in 0,1 proz. Lösung nach 3 Stunden abgestorben.

Schwefelsäure: in 5 proz. Lösung sofort, in 1 proz. Lösung nach 5 Minuten, in 0,5 proz. Lösung nach 45 Minuten, in 0,1 proz. Lösung nach 3 Stunden zu grunde gegangen.

In 5 proz. Kalilaugelösung sterben sie nach 3 Stunden ab, während sie in 0,05—1 proz. Lösungen nach 24 Stunden noch lebendig bleiben.

Da ich in allen Fällen von Impetigo contagiosa stets dieselben Mikroorganismen reingezüchtet hatte, so lag die Vermutung nahe, dafs sie die Erreger dieser Affektion seien. Dieser Beweis konnte indessen nur durch das Experiment erbracht werden. Ich machte Impfversuche am Menschen, wozu ich mich selbst und drei Erwachsene sich bereitwilligst zur Verfügung stellten. Zunächst handelte es sich um die Sterilisierung der

Haut und leichte Verletzung derselben. Sie wurde zu diesem Zweck mit 5 proz. Karbolsäure, Alkohol und Äther fest gerieben, bis sie entweder leicht blutete oder serös durchtränkt war. Nach Verdunstung des Äthers auf der Impfstelle wurden auf derselben die bei Zimmertemperatur 48 Stunden lang kultivierten Agarkulturen von weifsen und gelben Rassen verrieben. Nach 2—3 Tagen fand ich an der infizierten Stelle typische Impetigopusteln, aber etwas kleiner als bei natürlich erkrankten Kindern; im Pustelinhalt waren dieselben Mikroben nachweisbar und die Reinkultur fand ich identisch mit der Ausgangskultur. Alle 4 Impfversuche erhielten zufriedenstellende positive Erfolge. Vor allem scheint es aber, dafs die weifse Rasse weniger Virulenz hat als die gelbe, weil sich bei den mit ersterer gemachten beiden Versuchen viel kleinere und schneller heilbare Pusteln als bei den mit der gelben Rasse vorgenommenen Impfungen entwickelt hatten.

Ferner habe ich zufällig gefunden, dafs unsere Impfimpetigokranken durch das Badewasser (japanische Badeweise) andere gesunde Erwachsene angesteckt haben.

Aus diesen Impfversuchen geht ebenfalls hervor, dafs die isolierten Mikrokokken Erreger der Impetigo contagiosa sind, und dafs die weifse und gelbe Rasse ein und dieselbe Spezies darstellen. Ferner habe ich beobachtet, dafs die gelbe Rasse allmählich in die weifse übergeht.

Aufserdem bemerke ich hierzu, dafs das Filtrat der Bouillonkulturen von gelben und weifsen Impetigo-Contagiosa-Kokken auf die menschliche Haut keine schädliche Wirkung ausübt, und dafs durch Abreiben mit Mikrococcus pyogenes aureus und albus keine Pusteln der Impetigo contagiosa, sondern nur Furunkeln u. a. hervorgerufen werden. Hieraus geht hervor, dafs der Erreger der Impetigo contagiosa eine von den echten Eiterkokken gänzlich verschiedene Spezies ist, trotzdem sich beide Mikroorganismen in morphologischer und kultureller Beziehung sehr ähnlich sind.

Der Nachweis des Tuberkelbazillus im Sputum.

Von

Dr. med. **Nakao Abe.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kyoto.
Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.)

Bei der Untersuchung von Sputum auf Tuberkelbazillen entstehen oft grofse Schwierigkeiten. Für die Untersuchung bakterienarmen Sputums empfehlen zahlreiche Autoren z. B. Biedert[1]), Wendriner[2]), Kühne[3]), Mülhäuser[4]), Weyl[5]), Czaplewski[6]), Hammerschlag[7]), Dahmen[8]), van Ketel[9]), Nebel[10]) u. a. verschiedene Anreicherungsmethoden, aber keine befriedigt vollkommen. Alle Autoren suchen das zu untersuchende Sputum mehr homogen zu machen, die darin enthaltenen Tuberkelbazillen zur Sedimentierung zu bringen und dann das Sediment erst zur mikroskopischen Untersuchung zu verwenden. Um das Sputum zu homogenisieren verwenden sie Ammonium

---

1) Biedert, Berliner klin. Wochenschrift 1886, Nr. 42.
2) Wendriner, Allgem. med. Zentralbl. 1889, Nr. 8.
3) Kühne, Zentralbl. f. Bakt., 1890, Nr. 10.
4) Mülhäuser, Deutsche med. Wochenschr. 1891, Nr. 7.
5) Weyl, Deutsche med. Wochenschr. 1891, Nr. 7.
6) Czaplewski, Die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbazillen 1891.
7) Hammerschlag, Zentralbl. f. klin. Med. 1891, Nr. 1.
8) Dahmen, Münch. med. Wochenschr. 1891, Nr. 38.
9) Van Ketel, Archiv für Hygiene, Bd. 15, S. 109, 1892.
10) Nebel, Archiv für Hygiene, Bd. 47, S. 57, 1903.

karbonat, Natronhydrat, Borax, Borsäurelösung, Karbolsäure, Chloroform, Kalkwasser u. a.

Will man sich ein Urteil bilden über die Zweckmäfsigkeit der Sputumuntersuchungen auf Tuberkelbazillen, so mufs man sich klar machen, welche Anforderungen an die Methoden zu stellen sind. Nach meiner Meinung müssen die anzuwendenden Verfahren 1. einfach in der Ausführung und sicher in dem Ergebnis sein; 2. dürfen sie keine Infektionsgefahr bei der Behandlung und Reinigung der gebrauchten Gefäfse usw. mit sich bringen; 3. mufs das Sputum auf Deckglas leicht fixierbar sein und 4. mufs das Verfahren ein helles mikroskopisches Bild liefern.

Die Methoden, die eine Erhitzung erfordern (Biedert, Dahmer) sind nicht einfach genug. Wohl wird hierbei das Sputum desinfiziert; dagegen beseitigen die Sedimentierungsmethoden durch Borax, Borsäure, Ammoniumkarbonat, Natronhydrat, Kalkwasser u. a. (Kühne, Wendriner, Mülhäuser, Weyl, Hammerschlag, Nebel etc.) nicht die Gefahr vor Infektion. Eine weitere Sedimentierungsmethode durch Karbolsäure (van Ketel) ist freilich gefahrlos, aber das Sediment ist auf dem Deckglas schlecht fixierbar. Es mufste sich daher immer noch der Mühe lohnen, ein Verfahren zu finden, das den oben angeführten Anforderungen mehr entspräche.

Um das zähschleimige, die Tuberkelbazillen in unregelmäfsiger Verteilung enthaltende Sputum in eine dünne, vollständig homogene Flüssigkeit zu verwandeln, lassen sich auch bei Verwendung von Sodalösung, Kalilauge, Kochsalz, Pepsin und Salzsäure gute Erfolge erzielen. Ich habe nämlich die Sputa mit einer 3fach gröfseren Menge 2proz. Sodalösung oder 0,05proz. Kalilaugelösung, oder 0,088—2proz. Kochsalzwasser, oder einer Mischung von Pepsin (1 g) Salzsäure (0,4 ccm) und Aq. dest. (100 ccm) verdünnt und das Ganze dann einige Minuten kräftig geschüttelt, endlich die dünnflüssig gewordene Sputummasse 10 Minuten lang zentrifugiert. Die Sedimente wurden mikroskopisch untersucht und jedesmal von drei bis neun Deckglaspräparaten je 30 Gesichtsfelder gezählt. Folgende Tabelle zeigt

die Vermehrungsintensität der Tuberkelbazillen. Setzt man die Anzahl der Tuberkelbazillen im Originalsputum = 1, so beträgt dieselbe bei

Arten der Sputum	Homogenisierung mit						
	2 % Soda-lösung	0,88 ‰ Kochsalz-wasser	1 % Kochsalz-wasser	2 % Kochsalz-wasser	Pepsin-Salzsäure-wasser	0,05 % Kalilauge-wasser	Kalk-wasser
I	—	297	327	267	168	—	309
II	70	72	93	149	40	40	98

Die Präparate, zu deren Homogenisierung Pepsin-Salzsäurewasser verwendet wurde, waren sehr schmutzig, während die anderen Präparate ein helles schönes mikroskopisches Bild zeigten. Selbstverständlich haben solche Homogenisierungsmittel fast keine Desinfektionskraft und sind deshalb nicht zweckmäfsig.

Bei Versuchen, Tuberkelbazillen im Sputum durch Sublimat zu töten, machte ich die Beobachtung, dafs sich beim Schütteln von Sputum mit kochsalzhaltiger Sublimatlösung (dreifach gröfsere Menge als Sputa) auch die zäheste Sputa zu einer vollkommen homogenen und dünnflüssigen Masse verwandelt; dies wurde für mich der Ausgangspunkt für eine Behandlung des Sputums zum Zwecke der mikroskopischen Untersuchung, welche nach meiner Meinung allen gestellten Anforderungen gerecht wird.

Da Sublimat mit Eiweifskörpern unlösliche Verbindungen eingeht, ist dasselbe für Sputum nur verwendbar, wenn reichlich Kochsalz (1 Sublimat: 5 Kochsalz; für jedes Liter der Lösung 1 : 2000 einen gehäuften Teelöffel voll Kochsalz) zugegeben wird; es wird dann die Bildung der unlöslichen Verbindung verhindert[1]). Was die antiseptische und desinfizierende Wirkung von Quecksilberverbindungen im allgemeinen angeht, so ist seinerzeit von Behring[2]) der Satz aufgestellt worden, dafs diese Wir-

1) Flügge, Grundrifs der Hygiene, IV. Aufl., S. 524., 1897.
2) Behring, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 9, S. 400, 1890.

kung im wesentlichen nur von dem Gehalt an löslichem Quecksilber abhängig sei, die Verbindung möge sonst heifsen wie sie wolle. Dafs diese Ansicht (für rein wässerige Lösungen) nicht zu Recht besteht, haben dann später Krönig und Paul[1]) nachgewiesen. Diese Autoren haben durch ihre Untersuchungen gezeigt, dafs die Desinfektionswirkung von Quecksilberlösungen nicht allein von der Konzentration des in der Lösung befindlichen Metalls abhängt, sondern dafs sie abhängig ist von den spezifischen Eigenschaften der Salze und der Lösungsmittel. Krönig und Paul fanden z. B., dafs durch Chlornatriumzusatz die Desinfektionskraft des Sublimats (wenigstens in konzentrierteren Lösungen) sehr herabgesetzt wird; ebenso wie Chlornatrium wirken in dieser Beziehung Chlorkalium oder Salzsäure. Derartige Zusätze werden bekanntlich in der Praxis benutzt, erstens, um das Sublimat leichter löslich zu machen, und zweitens, weil die mit derartigen Zusätzen hergestellten Sublimatlösungen den Vorteil bieten, dafs sie sich selbst bei Benutzung gewöhnlichen Wassers dauernd unzersetzt halten, was ohne diese Zusätze nur bei Anstellung der Flüssigkeit mit reinstem destilliertem Wasser und Aufbewahrung im Dunkeln der Fall ist (Michaelis[2]). Die Pastilli Hydrargyri bichlorati sind nach dem Vorgange von Angerer[3]) aus gleichen Gewichtsteilen Sublimat und Kochsalz hergestellt, was ungefähr dem Zusatze von 4,6 Mol. $NaCl$ auf 1 Mol. $HgCl_2$ entspricht. Bei einpromilligen Sublimatlösungen, die aus solchen Pastillen hergestellt worden sind, ist nach Krönig und Paul nur eine geringe Herabsetzung der Desinfektionskraft gegenüber reiner einpromilliger Sublimatlösung vorhanden. Für konzentriertere Lösungen aber empfehlen die Autoren, nicht über einen Zusatz von 2 Mol. $NaCl$ auf 1 Mol. $HgCl_2$ hinauszugehen, weil sich dabei bereits das leichtlösliche Doppelsalz Na_2HgCl_4 bildet.

1) Krönig und Paul, Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 21, S. 449, 1896. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 25, S. 65, 1897.

2) Michaelis, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 4, S. 395, 1888.

3) Angerer, Zentralbl. f. Chir. 1887, Nr. 7.

Nach Schill und Fischer[1]) ist das Sublimat als Desinfektionsmittel für Tuberkelbazillen im Sputum gar nicht verwendbar, da eine periphere Eiweifsfällung sein tieferes Eindringen verhindert. Bei Verwendung von Tuberkelsaft aus tuberkulösen Menschenlungen dagegen erwies sich das Sublimat nach Vallin, Spengler[2]) bei 1 : 1000 wirksam, während bei einer Verdünnung von 1 : 2000 die Wirksamkeit fehlte.

Zu dem Zweck, die bis jetzt noch nicht genau angestellten Versuche über die Desinfektionskraft des Sublimats für den Auswurf der Phthysiker zu kontrollieren, habe ich in einem mit Glaspfropf versehenen Glaszylinder eine genau abgemessene Menge Sputum (je 10 g), dessen reichlicher Gehalt an Tuberkelbazillen vorher konstatiert war, aufgenommen und entweder 2‰ Sublimat bis 1% Kochsalz-Lösung oder 1‰ Sublimat bis 1‰ Kochsalz-Lösung in der dreifachen Menge zugesetzt und dann 10—20 Minuten lang kräftig geschüttelt. Nach bestimmter Dauer (4, 8 und 24 Stunden) der Einwirkung habe ich ca. 10 ccm von dieser Sputum-Sublimat-Flüssigkeit zentrifugiert. Um den Sublimat-Gehalt möglichst zu vermindern, wurde der Bodensatz mit der ca. 10fachen Menge sterilisierten Wassers gewaschen und wiederum zentrifugiert. Endlich wurde der Bodensatz auf Hesses Nährboden[3]) für Tuberkelbazillen gestrichen und intraperitoneal und subkutan Meerschweinchen injiziert. Selbstverständlich erfolgte zwischen den einzelnen Injektionen eine sorgfältige Reinigung der zur Verwendung gelangenden Instrumente.

Bei dieser Methode habe ich nie lebendige Mikroorganismen konstatiert; auf Hesses Nährböden entwickelten sich nur einige subtilisähnliche, sporenbildende Bazillenkolonien und unter 14 Versuchstieren blieben 12, welchen mit Sublimat behandeltes Sputum injiziert worden war, immer gesund, während die 2 anderen Kontrolltiere nach 7—18 Tagen an Tuberkulose zugrunde gingen. Hieraus bestätigt sich, dafs die Sublimat-Kochsalz-Lösung als Desinfektionsmittel für Sputum gut anwendbar ist.

---

1) Schill u. Fischer, Mitteil. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 2.
2) Spengler, Münch. med. Wochenschr. 1891, S. 791.
3) Hesse, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 31, S. 502.

Hierauf stellte ich mit Sublimat-Kochsalz, Karbolsäure und Lysol als Desinfektionshomogenisierungsmittel einige Versuche an. Die Versuchsanordnung war die oben beschriebene mit Sodalösung, Kochsalzlösung u. a. Die Vermehrungsintensität der Tuberkelbazillen stelle ich in folgender Tabelle zusammen. (Die Anzahl der Bazillen im Originalsputum = 1).

Arten der Sputum	Homogenisierung mit							
	10 % Lysollösung	5 % Karbolsäurewasser	5 % Karbolsäurewasser + 1 ‰ H Cl	5 % Karbolsäurewasser + 1 ‰ H Cl	2 ‰ Sublimatlösung + 1 % Na Cl	2 ‰ Sublimatlösung + 2 ‰ Na Cl	2 ‰ Sublimatlösung + 0,88 ‰ Na Cl	1 ‰ Sublimatlösung + 1 ‰ Na Cl
I	2	5	2	1/10	16	13	13	13
II	1	4	3	2	5	4	3	3
III	7	13	—	—	242	253	262	262
IV	—	76	—	—	295	—	—	—
V	—	378	—	—	336	—	—	—
VI	—	127	118	63	139	136	121	103

Hieraus erkennen wir, dafs die Sedimentierungsmethode mittels Sublimat besser als mit Karbolsäure ist, und dafs bei Homogenisierung mit Sublimatlösung der Gehalt von $HgCl_2$ oder NaCl sehr wenige Unterschiede zeigt. Es ist deshalb besser, als Homogenisierungsmittel eine Lösung von 2 g Sublimat, 10 g Kochsalz und 1000 ccm Wasser zu verwenden, wobei ich bemerke, dafs das mit Sublimat behandelte Sputum leicht auf dem Deckglas ausstreichbar ist und damit ein schönes mikroskopisches Bild erhalten wird.

Ferner habe ich die Sedimentierungsmethoden von Ketel und Nebel mit 2 ‰ Sublimat — 1 % Kochsalz-Lösung verglichen und war die Anzahl der vorgefundenen Tuberkelbazillen

in Originalsputum	1
bei Homogenisierung mit 5 % Karbolsäure	76
» » » Kalkwasser	176
» » mit 2 ‰ $HgCl_2$ + 1 % NaCl .	295.

Da in der überstehenden Flüssigkeit ca. 8 mal so viel Tuberkelbazillen als in dem Sediment vorhanden sind, habe ich auch wie bei dem Nebelschen Versuche mittels Tonfilter ein ganzes Sputum, welches durch Kalkwasser und eine Lösung von

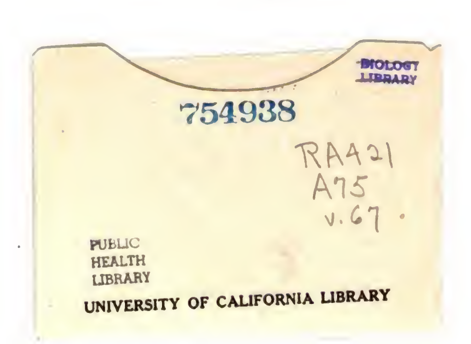
$2\permil$ $HgCl_2$ + 1% NaCl dünnflüssig gemacht worden ist, abfiltriert.

Das Resultat, welches die Untersuchung des durch Filtration erhaltenen Rückstandes mit der gewöhnlichen Tuberkelbazillenfärbungsmethode ergab, war folgendes:

Arten der Sputum	Die Anzahl der Tuberkelbazillen		
	Original-sputum	bei Behandlung mit Kalkwasser	bei Behandlung mit einer Lösung von $2\permil$ $HgCl_2$ + 1% NaCl
I	1	234	756
II	1	282	1179

Aus den oben beschriebenen Versuchen ergibt sich, dafs die Nebelsche Methode gut anwendbar ist; aber sie ist ziemlich gefährlich, weil das Kalkwasser überhaupt kein kräftiges Desinfektionsmittel ist; dagegen ist die Homogenisierung mit Sublimat sehr zweckmäfsig. Ich empfehle deshalb als Anreicherungsmethode der Tuberkelbazillen eine Homogenisierung mit Sublimat-Kochsalz-Lösung.

Zum Schlusse gebe ich eine kurze Beschreibung der Methode, wie dieselbe sich mir bisher am zweckmäfsigsten erwiesen hat. In einen weitmündigen Glaszylinder von etwa 100 ccm Inhalt werden von dem zu untersuchenden Sputum 5—10 ccm gebracht; hierzu werden 15—30 ccm einer Lösung von 2 g Sublimat, 10 g Kochsalz in 1000 ccm Aq. dest. gefügt, und der mit einem Glaspfropfen geschlossene Zylinder ca. 10 Minuten lang stark geschüttelt. Von dem dünnflüssigen Sputum werden direkt ca. 15 ccm in das Zentrifugengläschen gebracht und ca. 10 Minuten lang zentrifugiert. Das Sediment wird nach der Gabbet- oder Ziehl-Neelsenschen Methode gefärbt und untersucht. Bakterienarme Sputa wurden nicht zentrifugiert, sondern in einem keimdichten Berkefeld-Filterbecher abfiltriert (die Zeit der Filtration dauert bei 10—15 ccm im allgemeinen 2—3 Stunden) und der durch Filtration erhaltene Rückstand in der üblichen Weise untersucht.


BIOLOGY
LIBRARY
754938
RA421
A75
v.67
PUBLIC
HEALTH
LIBRARY
UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY





